ایمنولوجی سلولی و مولکولی همراه سرولوجی

فصل اول: ایمنی ذاتی و اکتسابی

فصل دوم: آنتی جن و آنتی بادی

فصل سوم: کمپلکس سازگار نسجی MHC

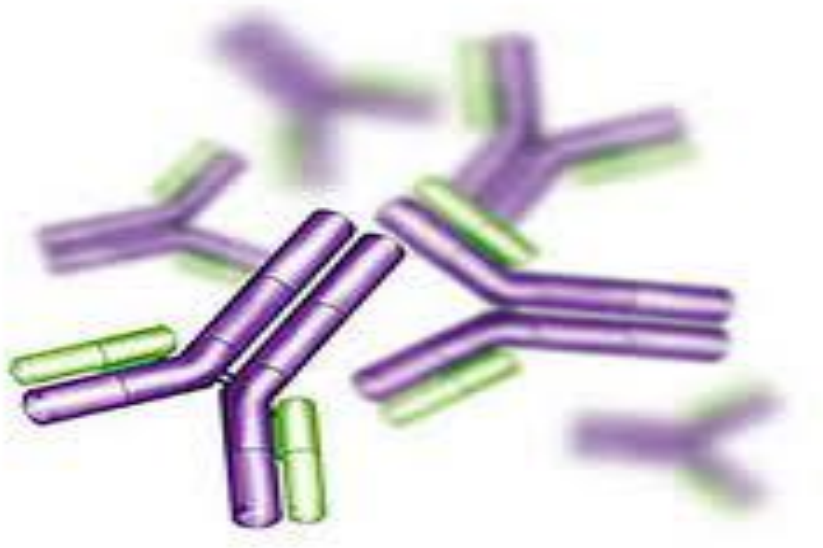
فصل چهارم: گیرنده های سلولT

فصل پنجم: سیستم کمپلمان

فصل ششم : واکنش های ازدیاد حساسیت

فصل هفتم: بیماری های نقص ایمنی

استاد: علی پور



فصل اول

ایمنی ذاتی و اکتسابی

تلگرام https://t.me/Khu_medical

تلگرام https://t.me/Khu_medical

مقدمه:

کلمه ایمنی[1] اولین بار از کلمه Immunitas مشتق شد و این کلمه در ابتدا به مصؤنیت سیاسی سناتورهای روم باستان اشاره داشت ؛ چون در طول دورهء وظیفه خود از مصؤنیت سیاسی برخوردار بودند.

کاروعمل اصلی سیستم ایمنی، دفاع در برابر آنتی جن های بیگانه می باشد که از راهای گوناگون وارد بدن می شوند ولی سیستم ایمنی همچنین قادر است آنتی جن های خودی را شناسایی کند و در صورت نیاز آنها را نیز از بین ببرد.

نکته: در نوعی بیماری بنام بیماری های اتوایمیون، سیستم ایمنی آنتی جن های خودی را نمی تواند بطور صحیح شناسایی کند وعلیه آنتی جن های خودی واکنش بیش از اندازه نشان داده و در نتیجه باعث امراض گوناگون میشود.

با توجه به توضیحات ، تعریف دقیق ایمنی عبارت است از واکنش سیستم ایمنی بدن در مقابل انواع مختلفی از آنتی جن ها، اعم ازپروتئین، پلی ساکارید و اسیدهای نوکلوئیک، بدون اینکه نتیجه فیزیولوجیک و یا پاتولوجیک آن در نظر گرفته شود. تاریخچه علم ایمنولوجی هرچند به قبل از میلاد مسیح برمیگردد ولی میتوان گفت که پیشرفت اصلی آن به دوران کشف واکسین آبله مرغان[2] توسط ادواردجنر[3] مربوط می شود. او متوجه شد که دختران شیر دوشی که از گاوهای آلوده به آبله گاوی شیر می دوشند ، به آبله گاوی خفیفی مبتلا شده و پس از مدتی بهبود می یابند و دیگر به آبله مبتلا نمی شوند بر این اساس او یک تجربه انجام داد، بدین صورت که محتویات پیستول آبله گاوی را به کودک 8 ساله ای تزریق نمود این کودک به آبله گاوی مبتلا شد و پس از مدت کوتاهی بهبود یافت و نسبت به آبله انسانی مقاوم گردید. بدین ترتیب اولین واکسین و اولین تجربه واکسیناسیون توسط ادوراد جنر انجام شد.

ایمنی ذاتی[4]

اولین خط دفاعی بدن در مقابل عوامل بیگانه و پاتوجن ، ایمنی ذاتی می باشد. پس از اینکه ایمنی ذاتی فعال شد با تولید سایتوکین هایی باعث فعالیت ایمنی اکتسابی می گردد. به ایمنی ذاتی همچنین ایمنی فطری[5] و یا طبیعی[6] نیز گفته می شود و شامل مکانیزم بیوکیمیایی و سلولی میباشد که حتی پیش از عفونت(انتان) وجود دارد و به منظور پاسخ سریع علیه میکروب های ورودی به بدن بکار می رود. پاسخ های ایمنی ذاتی دارای چند خصوصیت می باشند: 1) حافظه ندارند؛ یعنی در برخورد های مکرر با یک نوع آنتی جن پاسخ یکسان می دهند. 2) قسمت هایی از باکتری یا عوامل بیگانه را شناسایی می کنند که این عوامل در سلول های پستانداران یافت نشده و تحت عنوان PAMP[7] یاد می شوند .PAMP شامل موارد زیر می باشد: RNA دو رشته ای در وایروس ها، توالی غیر متیله در DNA مثل نواحی CpG، Nفرمیل متیونین، LPS در باکتری های گرم منفی و تایکوئیک اسید در باکتری های گرم مثبت) . 3) اولین سد دفاعی بدن می باشد.

---

[1]Immunity
[2]Chicken Pox
[3]Edward Jenner
[4]Innate Immunity
[5]Native
[6]Natural
[7]Pathogen associated molecular pattern

ایمنی اکتسابی که به آن ایمنی اختصاصی[1] و یا ایمنی سازگار نیز گفته می شود پس از ایمنی ذاتی فعال می شود . بر خلاف ایمنی ذاتی این ایمنی دارای حافظه بوده و در اثر برخورد مجدد با یک نوع آنتی جن یکسان، دارای واکنش شدیدتری میباشد و پاسخ بیشتری می دهد و همچنین علیه قسمت های خاصی از آنتی جن واکنش میدهد .

برخی خصوصیات اصلی ایمنی اکتسابی:

اختصاصیت[2]: علیه قسمت های خاصی از آنتی جن که اپی توپ[3] نامیده می شود پاسخ می دهد نه علیه کل آنتی جن.

تنوع[4]: سیستم ایمنی اکتسابی به دلیل رسپتور های(آخذه) خاصی که در سطح سلول های این ایمنی وجود دارد، می توانند حدود 10^7 تا 10^9 اپی توپ یا شاخص آنتی جنی را شناسایی کند که به این توانایی بالای لمفوسایت ها ، برای شناسایی آنتی جن های مختلف، گنجینه لمفوسایتی[5] گفته می شود.

حافظه: این سیستم می تواند Memory Cell یا سلول های B خاطره ای را پس از برخورد اول با آنتی جن ایجاد کند ودر صورتی که همان آنتی جن برای بار دوم وارد بدن شود آن را زودتر شناسایی نموده و علیه آن پاسخ شدید تری نشان دهد.

گسترش کلونی[6]: از خصوصیات مهم دیگر این سیستم ایمنی این است که لمفوسایتی که قادرباشد به طور اختصاصی یک اپی توپ آنتی جن را شناسایی کند آنرا تکثر داده و باعث افزایش لمفوسایت اختصاصی می گردد.

محدود شدن و هموستاز[7]: این سیستم پس از فعال شدن و از بین بردن عامل پاتوجن، قادراست دوباره به سطح اولیه برگردد و خود را محدود نماید در غیر این صورت باعث آسیب به خود فرد شده و ممکن است انواع حساسیت ها و بیماری های اتوایمیون ایجاد گردد.

عدم واکنش با سلول های خودی[8]: یکی از مهمترین خصوصیت این سیستم این است که قادر است آنتی جن های خودی را از غیر خودی شناسایی کند و علیه آنتی جن های خودی واکنش نشان ندهد که به این عمل تحمل یا تولرانس[9] گفته می شود.

---

[1]Specific Immunity
[2] Specificity
[3]Epitope
[4]Diversity
[5]Lymphocyte Repertoire
[6]Clonal Expansion
[7]Hemostasis
[8]No reactivity to self
[9]Tolerance

نکته: در صورتی که سیستم ایمنی عمل هموستاز و عدم واکنش با آنتی جن های خودی را به خوبی انجام ندهد باعث به وجود آمدن نوعی بیماری بنام بیماری های اتوایمون می گردد؛ مثل: روماتیسم مفصلی، لوپوس سیستمیک SLE، میاستینا گراویس، دیابت اتوایمیون و آنمی های همولایتیک اتوایمیون.

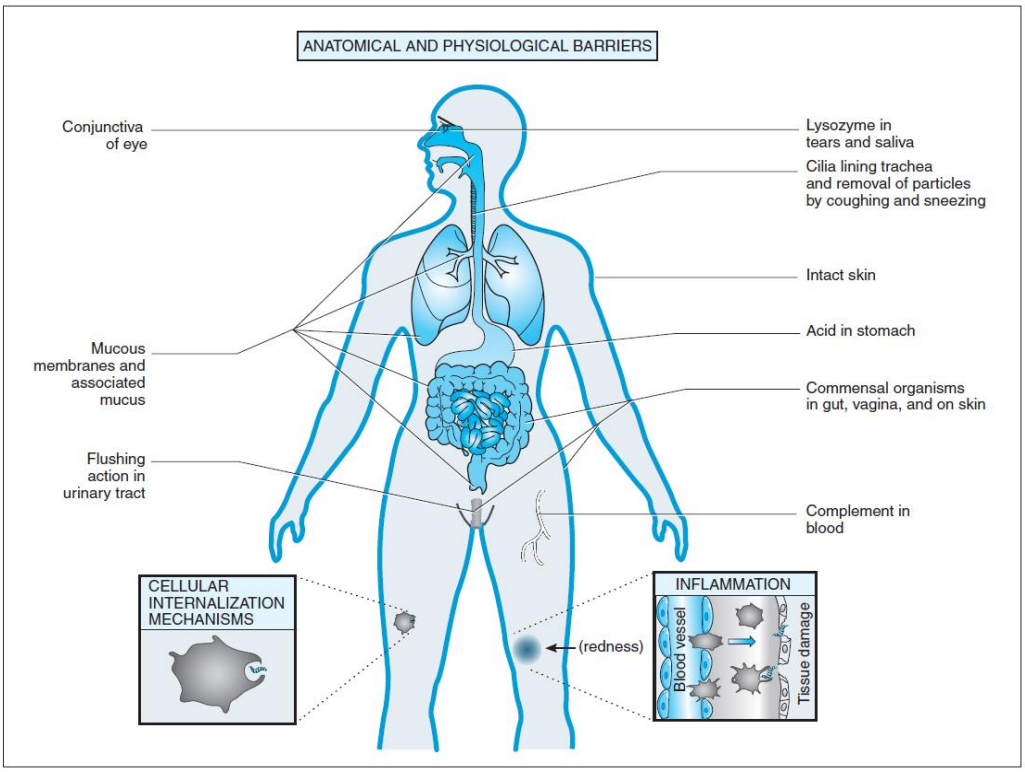
درشکل 2-1برخی خصوصیات ایمنی ذاتی و اکتسابی آمده است.

feature of innate and adaptive Immunity		
	Innate	Adaptive
Specificity	For structure shared by groups of related microbes	For antigens of microbes and for nonmicrobial antigens
Diversity	Limited- germ line-encoded	Very large
Memory	None	Yes
Non reactivity to self	Yes	Yes
Components		
Cellular and chemical barriers	Skin, mucosal epithelia, antimicrobial chemicals	Lymphocytes in epithelia, anti bodies secreted at epithelial surface
Blood protein	Complement, cytokines	Antibodies
Cells	Phagocytes(macrophages, neutrophils) natural killer cells	Lymphocyte

شکل2-1: خصوصیات اصلی و اجزای سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی

اجزای سیستم ایمنی ذاتی:

1) بیگانه خوارهای تک هسته ای و چند هسته ای (نوتروفیل و منوسایت)
2) سدهای میخانیکی بدن مثل: جلد سالم، ملتحمه چشم، موکوس موجود در مخاط سیستم هضمی و تنفسی، قدرت اسیدی بالای معده، فلور طبیعی واجندر خانم ها، لایزوزم موجود در اشک، عمل فلاشینگ ادرار و ... .
3) سیستم کمپلمان و تعداد زیادی سایتوکین که علیه باکتری ها و سلول های آلوده تولید می شوند .



شکل1-1: اجزاء و سلول های سیستم ایمنی ذاتی

اجزای سیستم ایمنی اکتسابی:

1) لمفوسایت های B و T
2) سلول های عرضه کننده آنتی جن[1]
3) سلول های عملیاتی[2]

نکته: در بین لمفوسایت ها ، سلول هایی وجود دارد بنام سلول های کشنده طبیعی که بیشتر در ایمنی ذاتی دخالت میکنند .

[1]APC(Antigen Presenting Cell)
[2]Effector Cells

Lymphocyte Lineage			
Class	Function	Ag Receptor	Selected markers
CD4+ T helper lymphocyte	B-cell differentiation & Macrophage activation	Receptor for MHC(II)	CD3+, CD4+, CD8-
CD8+ Cytotoxic T lymphocyte	Killing of cell infected with microbes intracellular & tumor cells	Receptor for MHC(I)	CD3+, CD4-, CD8+
Regulatory T cell	Suppress function of other T-cell	------	CD3+, CD4+, CD25+
B- lymphocyte	Antibody production	Receptor for all of Ab	CD19+, CD21+
Natural Killer Cells	Killing of virus-infected or damaged cells(innate immunity)	Limited to MHC(II) &MHC(I)	CD16+

شکل 3-1انواع مختلف لمفوسیت، عملکرد، خصوصیات شناسایی آنتی جن و مارکر های اختصاصی آنها

پاسخ های ایمنی ذاتی

اولین خط دفاعی بدن در مقابل عوامل پاتوجن و بیگانه، سیستم ایمنی ذاتی می باشد که فعال شدن ایمنی ذاتی فعال شدن ایمنی اکتسابی را به دنبال دارد. از این رو هر نقصی در ایمنی ذاتی می تواند نقص در ایمنی اکتسابی را بدنبال داشته باشد . اجزای ایمنی ذاتی ساختارهایی از میکروب ها را شناسایی می کنند که این ساختارها در سلول های پستانداران دیده نمی شوند و تحت عنوان PAMP[1] یاد می شوند.

چند مورد PAMP که توسط PRR موجود در سلول های ایمنی ذاتی شناسایی می شوند عبارتند از: RNA دو رشته ای در وایروس ها، توالی غیر متیله در DNA مثل نواحی CpG، Nفرمیل متیونین، LPS در باکتری های گرم منفی، تایکوئیک اسید در باکتری های گرم مثبت .

همان طورکه گفته شد PAMP توسط گیرنده های شناساگر الگو(PRR) شناسایی می شوند که دارای دو نوع ، متصل به سطح سلول و محلول در خون می باشد .

1) **انواع متصل به سطح سلول :** Toll like Receptor، C- type lectin، Scavenger Receptor ، NLR، N-formil receptor
2) **انواع محلول در خون :** پنتراکسین، کولکتین، فیکولین

[1]PAMP: Pathogen Associated Molecular Pattern

Cell-associated pattern recognition receptors	Location	Specific examples and their PAMP ligands
Toll-like receptors	Plasma membrane and endosomal membranes of dendritic cells, phagocytes, endothelial cells, and many other cell types	TLRs 1-9: Various bacterial and viral molecules (see Fig. 2–2)
C-type lectins	Plasma membranes of phagocytes	Mannose receptor: Microbial surface carbohydrates with terminal mannose and fructose
		Dectin: Glucans present in fungal cell walls
Scavenger receptors	Plasma membranes of phagocytes	CD36: microbial diacylglycerides
NLRs	Cytoplasm of phagocytes and other cells	Nod1, Nod2 and NALP3: bacterial peptidoglycans
N-formyl Met-Leu-Phe receptors	Plasma membranes of phagocytes	FPR and FPRL1: peptides containing *N*-formylmethionyl residues
Soluble recognition molecules	**Location**	**Specific examples and their PAMP ligands**
Pentraxins	Plasma	C reactive protein (CRP): Microbial phosphorylcholine and phosphatidylethanolamine
Collectins	Plasma	Mannose-binding lectin (MBL): Carbohydrates with terminal mannose and fructose
	Alveoli	Surfactant proteins SP-A and SP-D: Various microbial structures
Ficolins	Plasma	Ficolin: *N*-acetylglucosamine and lipoteichoic acid components of the cell walls of gram-positive bacteria

Abbreviations: TLR, Toll-like receptor; PAMP, pathogen-associated molecular pattern; NLR, Nod-like receptor

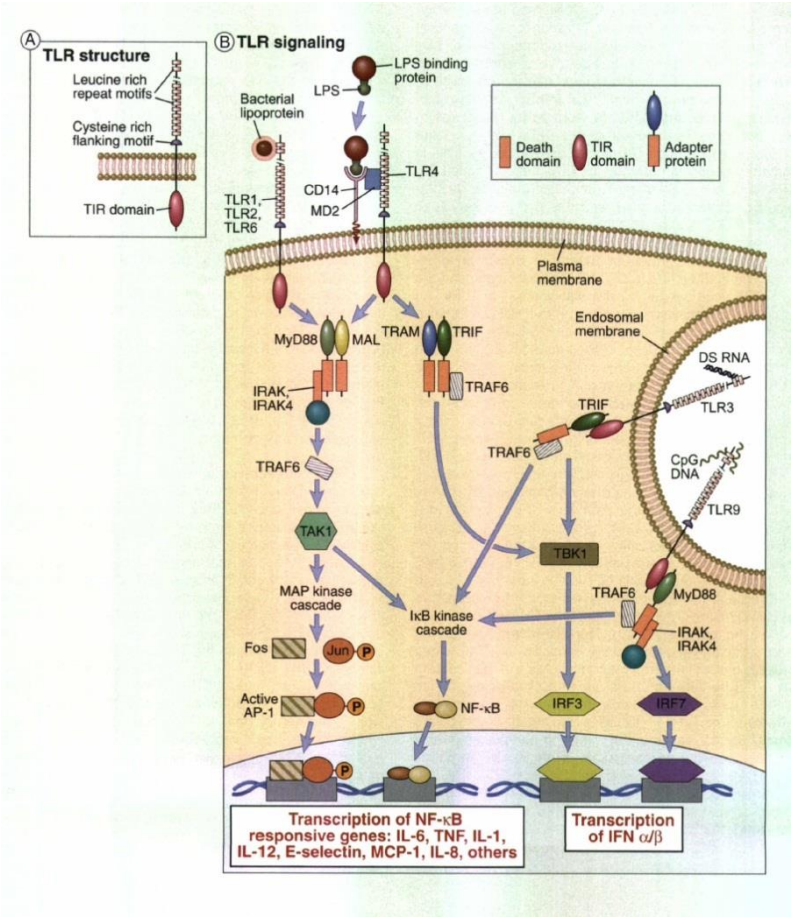
شکل 4-1: مولکول های شناساگر PAMP در سطح سلول و محلول در خون دخیل در ایمنی ذاتی

نکته: سیستم ایمنی ذاتی علاوه بر اینکه محصولات میکروبی را شناسایی می کند قادر است سلول های آسیب دیده توسط میکروب ها و وایروس ها و همچنین سلول های سرطانی را شناسایی کند و آنها را از بین ببرد که این شناسایی و حذف سلول های آلوده به عواملی مثل افزایش مولکولهای MHC در سطح سلول و پروتئین های شوک حرارتی(HSP[1]) وابسته است.

گیرنده شبه Toll(TLR[2]) :

این گیرنده در سطح سلول هایی مـثل نوتروفیل، ماکروفاژ، دندرایتیک و سلول های مخاط و اندوتلیال وجود دارد. همان طور که گفته شد این گیرنده در ایمنی ذاتی دخیل بوده و دارای 11 نوع می باشد وهمچنان دارای یک دومن (Domain) سایتوپلاسمی است که برای انتقال پیام به داخل سلول ضروری میباشد . شناسایی LPS باکتری توسط CD14 انجام میگردد و کمپلکس CD14-LPS به کمک مولکولی دیگر، بنام MD2 به TLR متصل گشته و از این طریق یک مسیر پیام های درون سلولی فعال گردیده که منجر به فعال شدن سلول شده و باعث حذف باکتری میگردد. اتصال CD14-LPS به TLR به کمک MD2 باعث فعال شدن سه مسیر داخل سلولی می گردد که جزئیات آن در شکل 5-1 آمده است. یاد آور می شویم که TLR علاوه بر نوعی که به غشاء سایتوپلاسمی متصل است و برای عوامل پاتوجن خارج سلولی بکار می رود داری چند نوع داخل سلولی نیز میباشد که به غشای هسته متصل بوده و برای مقابله با عوامل پاتوجن داخل سلولی مثل وایروس ها کاربرد دارد.

[1]Heat shock protein
[2]Toll Like Receptor



شکل5-1: تشکیل کمپلکس CD14-LPS-MD2-TLR در سطح سلول و راه اندازی سه مسیر داخل سلولی AP1، NF-KB وIRF

لکتین نوع-C : خانواده بزرگی از گیرنده وابسته به کلسیم بوده که معمولاً به کربوهایدرات ها متصل شده و در غشای سلول های فاگوسیت کننده مثل نوتروفیل، دندرایتیک سل و منوسایت ها دیده می شود. این گیرنده به کربوهایدرات هایی از باکتری متصل می شود که در انتهای خود دارای قند مانوز یا فرکتوز باشند.

گیرنده جاروب کننده[1]: این گیرنده در جذب لیپوپروتئین های اکساید شده به درون سلول نقش دارد و باعث ایجاد سلول های کف آلود[2] حاوی کلسترول می شود که در آتروسکلروز نقش مهمی دارد واز مهمترین این گیرنده ها می توان از CD36، CD68 و SRB1 نام برد.

گیرنده N-Formil met-leu-phe: این گیرنده بنیان های فرمیل را شناسایی می کند و شامل FPR در سطح نوتروفیل و FPRL1 در سطح ماکروفاژها می باشد. در بیولوژی خوانده ایم که همه پروتئین های باکتری و بعضی از پروتئین

[1]Scavenger Receptor
[2]Toll Like Receptor

های پستانداران که در مایتوکندری ساخته می شوند با N-فرمیل میتیونین شروع می شوند از این رو این گیرنده قادربه شناسایی اکثر پروتئین های باکتری می باشد.

پنتراکسین: این پروتئین جزء پروتئین هایی است که محلول در پلاسما بوده و پروتئین های باکتری را شناسایی می کند و دارای چند نوع مهم می باشد: CRP، SAP یا امیلوئید P سرم و PTX3. CRP درکبد ساخته می شود و در عفونت های باکتریایی میزان CRP به دلیل بالا رفتن سایتوکین هایی مثل IL1 و IL6 افزایش می یابد و در فرایند اپسونیزه شدن باکتری ها(بیگانه خواری به کمک آنتی بادی یا مولکول های دیگر) کمک می کند.

کولکتین: از پروتئین های محلول در پلاسما هستند که دارای یک دم شبه کلاجن بوده و وابسته به کلسیم می باشند. در این خانواده یک گیرنده متصل شونده به مانوز MBL[1] وجود دارد که در فعال سازی مسیر لکتین کمپلمان نقش مهمی دارد.

فیکولین: از لحاظ ساختاری شبیه کولکتین بوده با این تفاوت که دارای دومن شناسایی کربوهایدرات های نوع فیبرینوجنی می باشند. لیگاند های مهمی که توسط فیکولین شناسایی می شوند عبارتند از: N استیل گلوکوز آمین و لیپو تایکوئیک اسید در دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت.

بیگانه خوارها و پاسخ های التهابی :

بطور کلی دو نوع بیگانه خوار وجود دارد : 1- چند هسته ای که مهمترین آنها نوتروفیل می باشد. 2- یک هسته ای که مهمترین آنها منوسایت می باشد. این بیگانه خوارها به محض ورود انتان به داخل بدن به محل عفونت رفته وآنها را بلع می نمایند و علاوه بر از بین بردن آنها سایتوکین هایی ترشح می کنند که باعث تجمع دیگر بیگانه خوارها در محل عفونت میشوند و همچنین باعث فعال سازی پاسخ های ایمنی اکتسابی نیز می شوند.

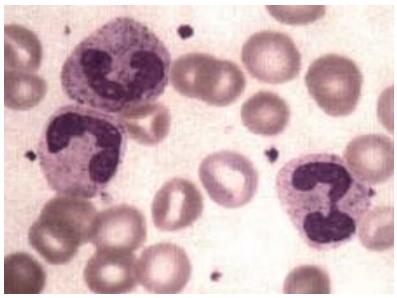
نوتروفیل: این سلول اولین سلولی می باشد که خود را به محل عفونت می رساند. و دارای قطری حدودی 12-15 میکرومتر می باشد. و سایتوپلاسم آن دارای گرانول های کوچک به رنگ سرخ کم رنگ تا صورتی می باشد و این گرانول ها دو نوع می باشند: 1- آزوفیل(اولیه یا غیر اختصاصی) ؛ ساخت این گرانول ها در مرحله پرومیلوسایت آغاز می شود و شامل انزایم های ذیل می باشد : هیدرولاز، میلوپراکسیداز، الاستاز، آریل سولفاتاز. 2- گرانول های غیر آزوفیل(ثانویه یا اختصاصی) تولید این گرانول ها در مرحله میلوسایت آغاز شده و دارای انزایم های ذیل می باشد: لایزوزوم، لاکتوفرین، کلاجناز، فعال کننده پلاسمینوجن، پروتئین متصل شونده به ویتامین B12. نوتروفیل دارای هسته چند لوبه می باشند که معمولاً 3 تا 5 عدد می باشد و به شکل حروف انگلیسی Z، S و U دیده می شوند.

نکته: نوتروفیل ها دارای گرانول های نوع سوم نیز می باشند که حاوی جلاتیناز می باشد.

[1]Mannose Banding Ligand

نکته: در صورتی که از هر 100 نوتروفیل 1 عدد بیشتر از 6 لوب داشته باشد و یا از هر 100 نوتروفیل 5 عدد دارای 5 لوب باشند اصطلاح هایپر سگمنتاسیون[1] بکار می رود که این نوع مورفولوجی نوتروفیل بیشتر در کمبود ویتامین B12 دیده می شود.

ساخت نوتروفیل در مغز استخوان[2] انجام می گردد و اولین سلول این رده که قابل شناسای می باشد میلوبلاست می باشد و این سلول در انواع مختلفی از لوکمیا ها بنام لوکمیا رده میلوئیدی در مغز استخوان و خون محیطی[3] افزایش می یابد. ساخت نوتروفیل و بقیه سلول های رده میلوئیدی در مغز استخوان توسط فاکتور محرک رده گرانولوسایتی (G-CSF[4]) افزایش می یابد. و هر فرد بالغ روزانه حدود 10^{11} عدد نوتروفیل تولید می کند که فقط 6 ساعت در گردش خون باقی می مانند و پس ازآن وارد بافت های مختلف شده و علیه باکتری ها و عوامل پاتوجن دیگر عمل می کنند و اگر هم باکتری وجود نداشته باشد طی فرایند مرگ برنامه ریزی شده(آپاپتوزیس) از بین می روند.

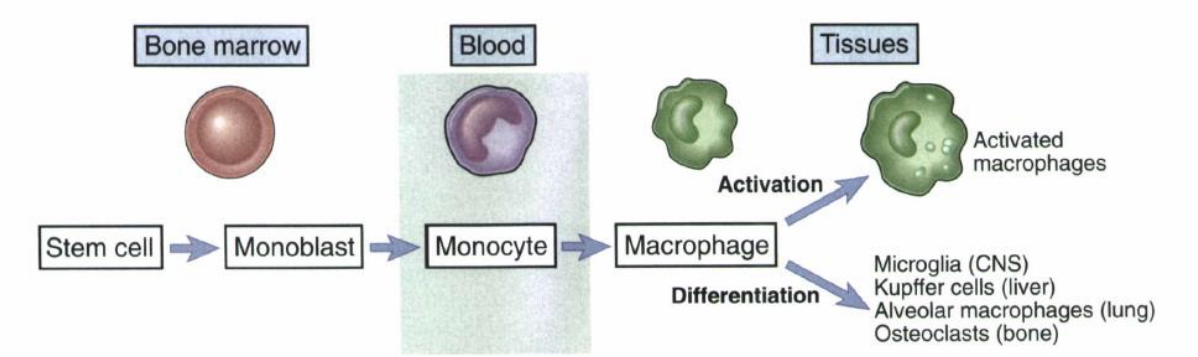


شکل6-1: مورفولوژی نرمال نوتروفیل توسط میکروسکوپ نوری،
همان طور که می بینید هسته دارای چند قسمت است به همین دلیل
به آنها بیگانه خوار چند هسته ای گفته می شود.

منوسایت: منوسایت جزء بیگانه خوار های تک هسته ای می باشد و اندازه آن بزرگتر از بقیه لوکوسایت های خون بوده و دارای قطری حدودی 15-20 میکرومتر می باشد، منوسایت نیز در مغز استخوان تولید شده و تولید آن توسط فاکتور محرک رشد منوسایتی گرانولوسایتی[5] (GM-CSF)القاء می گردد. منوسایت دارای هسته لوبیایی شکل بوده و دارای گرانول های بسیار کوچک میباشد که گاهی با رنگ آمیزی معمولی دیده نمی شود به همین دلیل بعضی منابع آن را جزء لوکوسایت های آگرانولوسایت (بدون گرانول) می شناسند. همچنین منوسایت دارای واکیول نیز می باشد. منوسایت پس از خروج از گردش خون و ورود به نسج ، بسیار بزرگ شده و ماکروفاژ نام می گیرد که بسته به نوع نسج به این ماکروفاژ اسامی مختلفی داده اند.

اسامی ماکروفاژ در بافت های مختلف : 1- کبد: کوپفر. 2- پوست: هیستیوسایت. 3- استخوان: اوستئوکلاست. 4- ریه: ماکروفاژ آلوئولر. 5- سیستم اعصاب مرکزی: میکروگلیا.

[1]Hyper Segmentation
[2]Bone marrow
[3]Peripheral Blood
[4]Granulocyte Colony stimulating factor
[5]Granulocyte Monocyte- Colony stimulating factor



شکل7-1: تولید منوسایت در مغز استخوان از سلول های بنیادی و آزاد شدن آنها به گردش خون و ورود به بافتهای مختلف و ایجاد ماکروفاژها

سلول های دندرایتیکD.C[1]: سلول های دندرایتیک از لحاظ مورفولوجی شبیه منوسایت بوده ولی دارای زوائد سایتوپلاسمی بلند تری می باشند و از اجداد منوسایت ها مشتق شده اند. دندرایتیک از لحاظ عملکرد اختصاصی تر از منوسایت بوده و در عرضه آنتی جن به لمفوسایت ها نقش مهمی دارند. نوعی دندرایتیک سل بنام دندرایتیک فولیکولی در مراکز زایای غدد لمفاوی وجود دارد و باعث عرضه آنتی جن به B-Cell می شوند. D.C از لحاظ مارکر های سطحی چند نوع هستند:1) میلوئیدی -CD8: ازبقیه انواع بیشتر می باشند و از BM مشتق شده و به انساج مختلف مهاجرت می کنند. 2)پلاسماسایتوئیدی: شبیه پلاسما سل بوده ولی بعد از فعال شدن ظاهر D.C پیدا می کنند. 3) میلوئیدی+CD8: فقط در موش دیده می شود و قبلاً D.C نوع لمفوئیدی نام داشت.

ورود و فراخوانی نوتروفیل ها به محل عفونت: مونوسایت و نوتروفیل از طریق اتصال به مولکول های چسبنده[2] روی سلول های ناحیه آسیب دیده و همچنین در پاسخ به سایتوکین های کموتاکتیک ، وارد محل عفونت می شوند که دارای چند مرحله است(شکل9-1)

مراحل ورود نوتروفیل و منوسایت به نسج عفونی(منتن) :

1) اتصال به سلکتین و غلطیدن روی آن: سلول های اندوتلیال محل عفونت در سطح خود لیگاند هایی بنام سلکتین بروز می دهند که گیرندهء آنها روی لکوسایت وجود دارد و بدین ترتیب لکوسایت به سلول های محل عفونت متصل شده و روی آنها می غلتد. سه نوع سلکتین وجو دارد الف) P-سلکتین ب) E- سلکتین ج) L-سلکتین

[1]Dendritic Cell
[2]Adhesion Molecules

Selectin	Size	Distribution	Ligand
L-selectin (CD62L)	90-110 kD (variation due to glycosylation)	Leukocytes (high expression on naive T cells, low expression on activated effector and memory cells)	Sialyl-Lewis X on GlyCAM-1, CD34, MadCAM-1, others
E-selectin (CD62E)	110 kD	Endothelium activated by cytokines (TNF, IL-1)	Sialyl-Lewis X (e.g., CLA-1) on various glycoproteins
P-selectin (CD62P)	140 kD	Storage granules and surface of endothelium and platelets	Sialyl-Lewis X on PSGL-1 and other glycoproteins

Abbreviations: CLA-1, cutaneous lymphocyte antigen-1; GlyCAM-1, glycan-bearing cell adhesion molecule-1; IL-1, interleukin-1; MadCAM-1, mucosal addressin cell adhesion molecule-1; PSGL-1, P-selectin glycoprotein ligand-1; TNF, tumor necrosis factor

شکل8-1: انواع مختلف سلکتین، محل ولیگاند مربوط به آنها

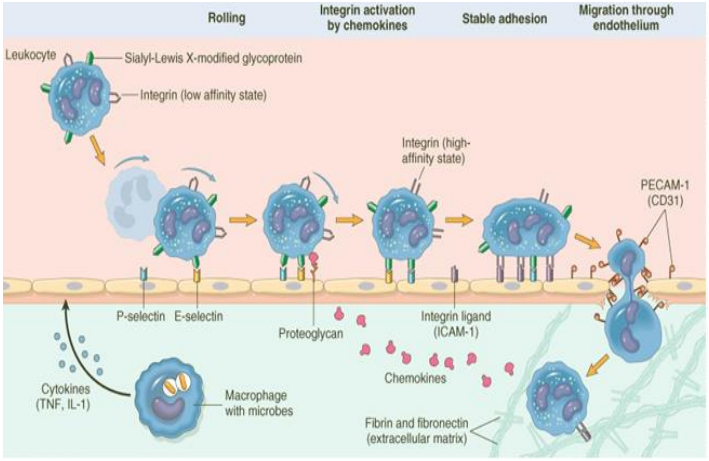
2) افزایش قدرت اتصال با چسبیدن یا اتصال به اینتگرین: اتصال لکوسایت به سلکتین سست می باشد و ممکن است با جریان خون کنده شود از این رو در سطح لکوسایت ها مولکول هایی بنام اینتگرین وجود دارد که پس از اتصال لکوسایت به سلکتین میل پیوندی اینتگرین روی لکوسایت ها برای اتصال به لیگاند خود در سطح اندوتلیال افزایش می یابد و به لیگاند خود محکم متصل شده و لکوسایت را محکم تر به اندوتلیال می چسباند تا توسط جریان خون کنده نشود.

نکته: اینتگرین ها دارای دو زنجیره ناهمسان بتا βو آلفا α می باشند که به صورت غیر کوالان به هم متصل شده اند و به خانواده های مختلف تقسیم بندی شده اند.

(اینتگرین هایی که دارای زنجیره بتا یک $\beta 1$ می باشندجزء خانوادهVLA و آنهایی که دارای زنجیره بتا دو $\beta 2$می باشند در خانواده LFA طبقه بندی می شوند.)

3) عبور لکوسایت از عرض اندوتلیوم : در این هنگام با ترشح کموکاین فاصله بین حجرات اندوتلیوم بیشتر شده و چسبندگی لکوسایت به اندوتلیوم کم میشود در نتیجه لکوسایت ها وارد نسج زیر اندوتلیوم می شوند که ورود لکوسایت به نسج آلوده ، مرحله مهم در ایجاد التهاب[1] است. مهاجرت نوتروفیل ها بیشتر به واسطه اتصال اینتگرین LFA به ICAM1 و همچنین اتصال لیگاند CXCL8 به گیرنده های خود CXCR1 وCXCR2 می باشد ولی مهاجرت منوسایت به دلیل اتصال اینتگرین VLA4 به VCAM1 و لیگاند CCL2 به گیرنده خود CCR2 می باشد.

[1]Inflammation



شکل 9-1: مراحل ورود لوکوسایت به بافت از عرض اندوتلیوم و ترشح سایتوکین های مختلف.

Subunits		Name	Major Ligands	Functions
β_1	α_1	VLA-1 (CD49aCD29)	Collagens	Cell-matrix adhesion
	α_2	VLA-2 (CD49bCD29)	Collagens	Cell-matrix adhesion
	α_3	VLA-3 (CD49cCD29)	Laminin	Cell-matrix adhesion
	α_4	VLA-4 (CD49dCD29)	VCAM-1, MadCAM-1	Cell-matrix adhesion; homing; T cell costimulation?
	α_5	VLA-5 (CD49eCD29)	Fibronectin	Cell-matrix adhesion
	α_6	VLA-6 (CD49fCD29)	Laminin	Cell-matrix adhesion
	α_7	CD49gCD29	Laminin	Cell-matrix adhesion
	α_8	CD51CD29	Fibronectin	Cell-matrix adhesion
	α_v	CD51CD29	Fibronectin	Cell-matrix adhesion
β_2	α_L	CD11aCD18 (LFA-1)	ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3	Leukocyte adhesion to endothelium; T cell–APC adhesion; T cell costimulation?
	α_M	CD11bCD18 (MAC-1, CR3)	iC3b, fibronectin, Factor X, ICAM-1	Leukocyte adhesion and phagocytosis; cell-matrix adhesion
	α_x	CD11cCD18 (p150, 95; CR4)	iC3b; fibronectin	Leukocyte adhesion and phagocytosis; cell-matrix adhesion
	α_d	CD11dCD18	VCAM-1, ICAM-3	Leukocyte adhesion to endothelium
β_3	α_{IIb}	GPIIb/IIIa (CD41CD61)	Fibrinogen, von Willebrand factor, thrombospondin	Platelet adhesion and aggregation
	α_V	Vitronectin receptor (CD51CD61)	Fibronectin, vitronectin, von Willebrand factor, thrombospondin	Cell-matrix adhesion
β_4	α_6	CD49fCD104	Laminin	Cell-matrix adhesion
β_5	α_v		Vitronectin	Cell-matrix adhesion
β_6	α_v		Fibronectin	Cell-matrix adhesion
β_7	α_4	LPAM-1	VCAM-1, MadCAM-1	Lymphocyte homing to mucosal lymphoid tissues
	α_E	HML-1	E-cadherin	Retention of intraepithelial T cells

Abbreviations: APC, antigen-presenting cell; iC3b, C3b inactivated; ICAM, intercellular adhesion molecule, LFA, leukocyte function-associated antigen; MadCAM-1, mucosal addressin cell adhesion molecule 1; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1. Adapted from Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. Cell 69:11–25, 1992. © Cell Press.

شکل10-1: اینتگرین ها

فاگوسایت میکروب ها توسط ماکروفاژ و نوتروفیل:

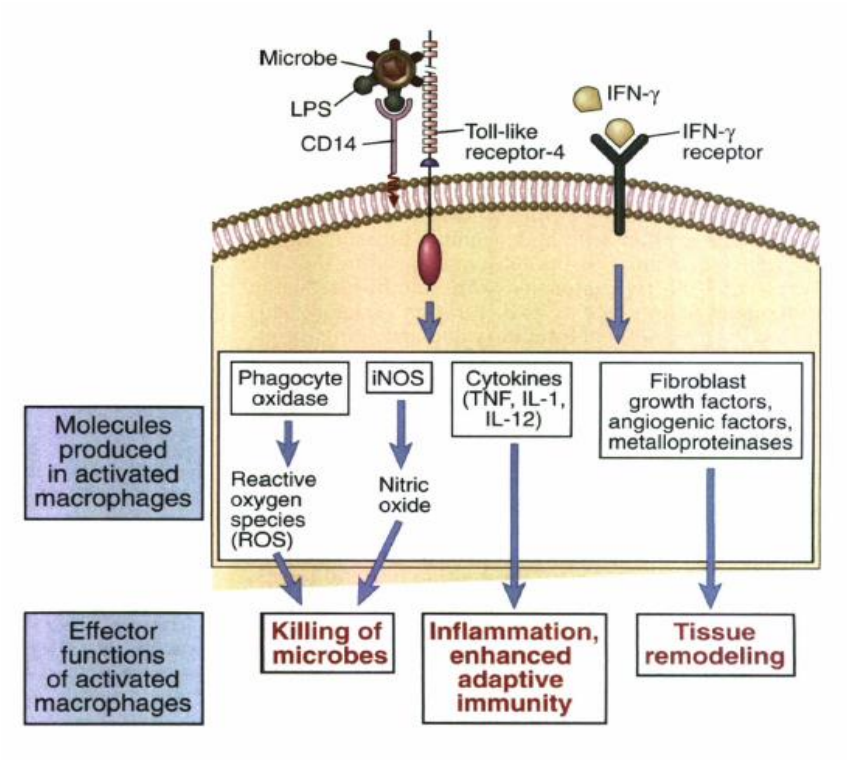
نوتروفیل و ماکروفاژها طی فرایند بیگانه خواری، باکتری ها را بلعیده و به درون ویزیکول (به این ویزیکول ها فاگوزوم گفته می شود) هدایت می کنند سپس لایزوزوم به این ویزیکول ها چسبیده و انزایم های داخل لایزوزوم باعث هضم باکتری یا عامل پاتوجن داخل ویزیکول می گردند. در مواردی که لازم باشد قسمت هایی از آنتی جن باکتری در کنار مولکول های MHC به لمفوسایت T در سیستم ایمنی اکتسابی عرضه می گردد. فرایندی وجود دارد بنام اپسونیزاسیون[1] که به کمک این فرایند به باکتری موادی به نام اپسونین (مثل آنتی بادی، بعضی از پروتئین های کمپلمان و لکتین) متصل شده و ماکروفاژ جهت اپسونین ها گیرنده داشته و به کمک اپسونین و این گیرنده ها باکتری را به میزان بالاتری می بلعد و به سیستم ایمنی اکتسابی عرضه می کند . البته فرایند عرضه آنتی جن توسط سلول های اختصاصی تری از ماکروفاژها بنام APC[2] انجام می گیرد.

ماکروفاژ و نوتروفیل ها پس از بلع باکتری به کمک انزایم های پرتئولایتیک خود باعث هضم باکتری می شوند. مهمترین این انزایم ها عبارتند از : 1) الاستاز که وجود آن برای کشتن بسیاری از باکتری ها ضروری است. 2) کاتپسین G 3) فاگوسایت اکسیداز که باعث تشکیل رادیکال های آزاد اکسیجن مثل ROI[3] می گردد و برای هضم باکتری ضروری است. 4) واسطه های فعال نیتروجن که توسط iNOS[4] تولید می شوند.

نکته: در نوعی بیماری بنام گرانولوماتوز مزمن CGD[5] نوتروفیل ها باکتری را بلعیده ولی به دلیل نقص انزایم فاگوسایت اکسیداز قادر به تخریب آن نیستند.

نکته : هنگامی که نوتروفیل و یا ماکروفاژ به شدت فعال شوند میزان زیادی اکسیجن فعال تولید خواهد شد و این اکسیجن فعال زیادی علاوه بر تخریب باکتری باعث آسیب به انساج اطراف محل عفونت نیز می شود.

[1]Opsonisation
[2]Antigen presenting Cell
[3]Reactive Oxygen Intermediate
[4]Inducible Nitric Oxide Synthase
[5]Chronic Granulomatous Disease



شکل11-1: فاگوسیت باکتری توسط ماکروفاژ و فعال شدن سه مسیر: عوامل کشنده باکتری، تولید فاکتور های التهابی و تولید فاکتورهای سازنده بافت جدید.

سلول های کشنده طبیعی[1]NKC: به دسته ای از لمفوسایت ها اطلاق می شود که از طحال (Spleen) و یا خون می توان آنها را جدا نمود و اگر آنها را در محیط آزمایشگاه قرار دهیم بدون نیاز به فعال سازی قادرند سلول های هدف را از بین ببرند به همین دلیل به آنها کشنده طبیعی گفته می شود(برخلاف بقیه لمفوسایت ها که برای از بین بردن باکتری یا سلول سرطانی نیاز به فعال شدن دارند).

NK برای ازبین بردن سلول های آلوده به وایروس و سرطانی از دو نوع گیرنده استفاده می کنند:

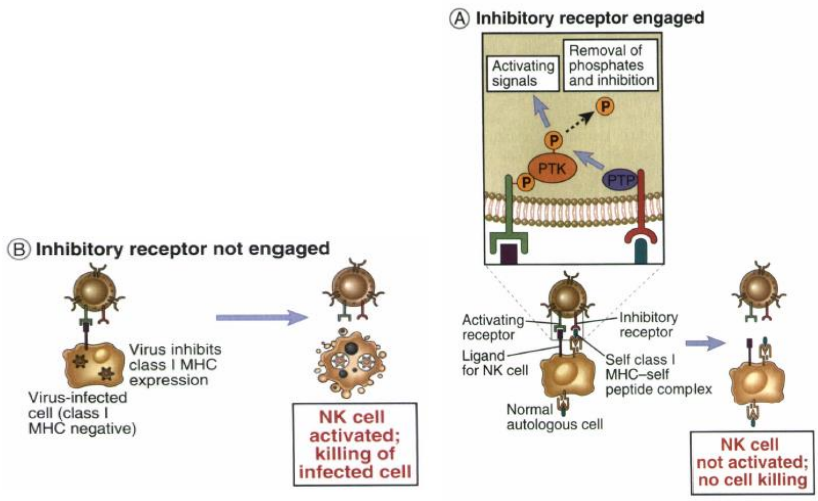
گیرنده مهاری ؛ مولکول MHC1 را شناسایی نموده و باعث فعال سازی پروتئین تیروزین فسفاتازPTP می گردد. در حالت طبیعی، سلول ها MHC1 را بروز می دهند و NK توسط گیرنده های مهاری خود MHC1 را شناسایی می کنند و به سلول سالم آسیبی نمی رسانند، حال اگر سلول آلوده به وایروس و یا سرطانی شود بروز MHC1 در سطح سلول کاهش می یابد و دیگر عامل مهاری برای جلوگیری از تخریب سلول توسط NK وجود ندارد و سلول آلوده توسط NK از بین می رود. این یکی از مکانیزم های ایمنی ذاتی است که باعث حذف سلول آلوده پیش از فعال شدن لمفوسایت های T می شود.

گیرنده فعال کننده؛ آنتی بادی هایی مثل IgG1 و IgG2 را که به باکتری متصل شده است شناسایی می کنند و باعث فعال شدن انزایم پروتئین تیروزین کیناز می شود. NK ها دارای مارکری بنام CD16 می باشند که ناحیه FC آنتی بادی هایی مثل IgG1 و IgG2 را که به باکتری متصل شده اند شناسایی نموده و باعث فعالیت NK شده و باکتری مورد

[1]Natural Killer Cells

نظر به این ترتیب از بین می رود. به این مکانیزم حذف باکتری بواسطه آنتی بادی فرآیند سایتوتوکسیسیتی بوسیله آنتی بادی[1] گفته می شود.

نکته: بعضی از وایروس ها مثل CMV(سایتومگالو وایروس) پس از آلوده کردن سلول در سطح سلول آلوده مولکول هایی شبیه MHC1 را بیان می کنند و بدین ترتیب NK با آن اتصال نموده و مکانیزم مهاری همچنان پایدار بوده و نمی توانند سلول آلوده را ازبین ببرند.



شکل 12-1: A مکانسیم مهاری در NK برای جلوگیری از تخریب سلول سالم و غیر آلوده. Bعدم مکانیسم مهاری بدلیل کاهش بیان MHC1 و تخریب سلول آلوده شده با ویروس بوسیله NK

NK دارای پروتئینی بنام پرفورین می باشند که ورود دیگر پروتئین های گرانولی بنام گرانزایم را به درون سلول هدف باعث می شوند. گرانزایم ها از جمله انزایم هایی می باشند که باعث فعال سازی مسیر آپاپتوزیس در سلول می شوند. در برخی از سرطان ها مخصوصاً لوکمیاها بروز مولکول MHC در سطح سلول کاهش می یابد و بدین ترتیب NK با شناسایی سلول سرطانی باعث القاء آپاپتوزیس می شوند. همچنین NK پس از فعال شدن مقدار زیادی IFNγ ترشح می کنند که این سایتوکین باعث فعال شدن ماکروفاژ شده و بدین ترتیب قدرت بیگانه خواری افزایش می یابد.

[1]Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity

تلگرام https://t.me/Khu_medical

ایمنی اکتسابی

سلول های ایمنی اکتسابی؛

اصلی ترین سلول ها در ایمنی اکتسابی عبارتند از:

1) لمفوسایت ها
2) سلول های عرضه کننده آنتی جن1 (APC)
3) سلول های عملیاتی2

لمفوسایت ها:

لمفوسایت ها بدلیل داشتن رسپتور های اختصاصی(TCR[3]) تنها سلول هایی هستند که قادر به شناسایی و تفکیک شاخص های آنتی جنیک بوده از این رو دو خصوصیت مهم ایمنی اختصاصی (ویژگی و خاطره) مربوط به لمفوسایت ها می باشد.
انواع لمفوسایت:

بطور کلی لمفوسایت دو نوع B و T دارد که هرکدام دارای انواع مختلف دیگری می باشند.

لمفوسایتB: در پرندگان در عضوی بنام بورسافابریسیوس تولید می شوند ولی در انسان در مغز استخوان و از پیش سازهای رده لمفوئیدی مشتق شده و در همان جا بلوغ پیدا کرده و سپس جهت برخورد با آنتی جن و تولید آنتی بادی به اندامهای لمفاوی(طحال و غدد لمفاوی) مهاجرت می کنند.

انواع لمفوسایت B:

B-Cell ناحیه حاشیه ای[۴] : در سطح خود دارای CD21 (CR2[5]) و IgMبوده و مثل نوع B1 تنوع شناسایی آنتی جن محدودی دارند و فقط به آنتی جن های پلی ساکاریدی پاسخ داده و سریعاً به پلاسماسل با طول عمر کوتاه تبدیل می شوند.

B-Cell فولیکولی: در سطح خود دارای IgM و IgD می باشند و به آنها نوع در گردش نیز می گویند. بیشترین نوع B-Cell را تشکیل می دهد و قدرت شناسایی آنتی جن آن از بقیه انواع بیشتر بوده و می تواند انواع آنتی جن پلی ساکاریدی، پروتئینی و اسید های نوکلوئیک را شناسایی کند.

B-Cell نوع 1(Lym-B1): در دوران جنینی و در کبد تولید می شود و در سطح خود دارای CD5 و IgM می باشد.

---

[1]Antigen Presenting Cells
2Effector Cells
[3]T-Cell Receptor
[4]Marginal Zone
[5] Complement receptor 2

لمفوسایتT : مثل نوع B در مغز استخوان و از پیش سازهای لمفوئیدی ساخته می شود منتهی مراحل بلوغ خود را در تایموس سپری کرده و در دیگر انساج لمفاوی (طحال و غددلمفاوی) مستقر شده و در آنجا با آنتی جن بیگانه برخورد کرده و فعال می شود.T-Cell در سطح خود دارای نوعی رسپتور (گیرنده) جهت آنتی جن بیگانه می باشد که TCR نام دارد و TCR دارای دو زنجیره می باشد و این زنجیره ها می تواند از نوع آلفا بتا (αβ) و یا نوع گاما دلتا (γδ) باشد که بر این اساس T-Cell به انواع مختلفی تقسیم می شود.

نوع αβ دار: دارای سه نوع می باشد.

الف) T-helper: این نوع +CD4و -CD8 می باشد که خود دو نوع است:Th1 بیشتر در ایمنی سلولی دخیل است، Th2 بیشتر در ایمنی هومورال دخیل بوده و منجر به تولید آنتی بادی از B-Cell می شود.

ب) CTL[1]: این نوع +CD8 و -CD4 می باشد و در از بین بردن سلول های آلوده به وایروس و سلول های سرطانی دخیل است.

ج) Regulatory T-Cell: در تنظیم عملکرد و فعالیت بقیه T-Cellها دخیل است. ودر صورت نقص آن بقیه انواع، فعالیت بیش از حد انجام داده باعث آسیب به خود انسان می شود مثل بیماری های اتوایمیون.

2) نوع γδ دار: نوع αβ دار بسیار کمتر بوده و تنوع گیرنده آن برای شناسایی آنتی جن محدود می باشد.

سلول های کشنده طبیعیNK: راجع به سلول های NK پیش تر بحث شد و گفته شد که نوعی از لمفوسایت ها می باشند که در ایمنی ذاتی بیشتر دخیل می باشند. این سلول ها از لحاظ گیرنده از نوع αβ بوده و دارای مارکرهای سطحی CD16 و CD3 می باشند.

نکته: سلول های B ناحیه حاشیه ای، B1، T-Cell نوع γδ و NK از لحاظ گیرنده آنتی جن تنوع زیادی ندارند و بعنوان یک پل ارتباطی بین ایمنی ذاتی و اکتسابی می باشند.

چند اصطلاح:

لمفوسایت بکر[2]: B-Cell و یا T-Cell بالغی می باشند که از اعضای لمفاوی اولیه و زایا مهاجرت کرده ولی هنوز با آنتی جن برخورد نداشته اند و اگر با آنتی جن برخورد نداشته باشد ظرف مدت 1 تا 3 ماه دچار آپاپتوزیس خواهد شد.

لمفوسایت در حال استراحت: لمفوسایت بکر و خاطره ای که در فاز G0 از تقسیم سلولی باشد لمفوسایت در حال استراحت گویند.

[1]Cytotoxicity T-lymphocyte
[2]Naive Cell

لمفوسایت خاطره ای[1]: به لمفوسایتی گفته می شود که سابقه برخورد با آنتی جن را دارد و جهت یک نوع آنتی جن اختصاصی می باشد ولی در حال استراحت بوده و در صورتی که آنتی جن برای بار دوم وارد بدن شود سریعاً آن را شناسایی نموده، و به میزان زیاد تکثر شده وعلیه آن واکنش نشان می دهد.

Class	Functions	Antigen receptor and specificity	Selected markers	Percent of total lymphocytes (human)		
				Blood	Lymph node	Spleen
αβ T lymphocytes						
$CD4^+$ helper T lymphocytes	B cell differentiation (humoral immunity) Macrophage activation (cell-mediated immunity)	αβ heterodimers Diverse specificities for peptide-class II MHC complexes	$CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^-$	50–60*	50–60	50–60
$CD8^+$ cytotoxic T lymphocytes	Killing of cell infected with microbes, killing of tumor cells	αβ heterodimers Diverse specificities for peptide-class I MHC complexes	$CD3^+$, $CD4^-$, $CD8^+$	20–25	15–20	10–15
Regulatory T cells	Suppress function of other T cells (regulation of immune responses, maintenance of self-tolerance)	αβ heterodimers	$CD3^+$, $CD4^+$, $CD25^+$ (Most common, but other phenotypes as well)	Rare	10	10
γδ T lymphocytes	Helper and cytotoxic functions (innate immunity)	γδ heterodimers Limited specificities for peptide and nonpeptide antigens	$CD3^+$, CD4, and CD8 variable			
B lymphocytes	Antibody production (humoral immunity)	Surface antibody Diverse specificities for all types of molecules	Fc receptors; class II MHC; CD19; CD21	10–15	20–25	40–45
Natural killer cells	Killing of virus-infected or damaged cells (innate immunity)	Various activating and inhibitory receptors Limited specificities for MHC or MHC-like molecules	CD16 (Fc receptor for IgG)	10	Rare	10
NKT cells	Suppress or activate innate and adaptive immune responses	αβ heterodimers (Limited specificity for glycolipid-CD1 complexes)	CD16 (Fc receptor for IgG); CD3	10	Rare	10

*In most cases, the ratio of $CD4^+CD8^-$ to $CD8^+CD4^-$ cells is about 2:1.
Abbreviations: IgG, immunoglobulin G; MHC, major histocompatibility complex

شکل13-1: رده های مختلف لمفوسایتی: عملکرد، گیرنده های اختصاصی آنتی ژن، مارکر های اختصاصی و میزان آنها در انساج مختلف.

CD[2] مارکر ها در سطح لمفوسایت ها: CD دسته هایی از شاخص های تمایزی سطح لمفوسایت ها می باشند که ابتدا آنها را در سطح لمفوسایت به کمک آنتی بادی منوکلونال شناسایی نمودند و از آنجایی که مشخص کننده خوشه تمایزی

[1]Memory Cell
[2]Cluster of Differentiation

(Cluster of Differentiation) رده های مختلف سلولی می باشد این نام به آنها اطلاق گردیده است. مثلاT-helper به صورت+CD4، -CD8 و +CD3 می باشد در حالی که CTL به صورت -CD4، +CD8 و +CD3 می باشد. دو عمل مهم برای CD ها در سطح سلول در نظر گرفته اند: 1) کمک به ارتباط و چسبنده گی سلول ها. 2) انتقال پیام و کمک به فعال شدن لمفوسایت. از آنجایی که CD ها در سطح سلول مشخص کننده نوع سلول و همچنین درجه بلوغ آن می باشند امروزه کاربرد وسیعی در طب پیدا کرده اند و در تشخیص نوع لوکمی ها ازتخنیکی بنام فلوسایتومتری برای شناسایی CD مارکرهای اختصاصی هر رده از لوکمی استفاده می گردد. با فلوسایتومتری می توان مشخص نمود سلول های سرطانی حاوی چه CD هایی هستند و کدام CD ها را ندارند بدین ترتیب مشخص می شود لوکمی از چه رده بوده و در کدام مرحله قرار دارد که این پدیده کمک بسیار زیادی در درمان مؤثر و پیگیری درمان دارد.

سلول های عملیاتی[1]: سلول های عملیاتی به لمفوسایت هایی گفته می شود که فعال شده، بزرگتر گردیده و تکثر پیدا می کنند و معمولاً عباتند از Th[2]، CTL[3] و پلاسما سل. بعنوان مثال Th که CD4+ می باشد پس از فعال شدن لیگاند CD40(CD154) را بروز می دهند که باعث فعال شدن B-Cell و تبدیل آن به پلاسما سل می گردد همچنین سایتوکین هایی ترشح می کنند که فعال شدن ماکروفاژها را بدنبال دارد.

نکته: وجود CD25(گیرنده IL2) روی Th و CTL نشان دهنده تازه فعال شدن آنها می باشد(سلول عملیاتی)

سلول های عرضه کننده آنتی جن[4] (APC): به سلول هایی گفته می شود که باکتری ها و سایر آنتی جن ها را به دام انداخته و قسمتی از ساختمان آنتی جنیک آنها (اپی توپ) را در حضور مولکول های MHC به لمفوسایت های T عرضه می نماید. به طور کلی سه نوع APC داریم: 1) ماکروفاژها. 2) B-Cell. 3) سلول های دندرایتیک.

در بین این سه نوع، دندرایتیک سل ها از بقیه اختصاصی تر می باشند چون: 1) در محل عفونت به مقدار زیاد وجود دارند، 2) MHC را به میزان زیاد بیان می کنند، 3) دارای TLR می باشند، 4) دارای کمک محرک[5] نیز هستند، 5) پس از فاگوسایت باکتری ، محل عفونت را ترک کرده وبه غدد لمفاوی رفته تا آنتی جن را عرضه نمایند.

سلول های دندرایتیک: درمغز استخوان و از پیش ساز های منوسایتی ساخته می شوند. دارای زوائد سایتوپلاسمی بلند بوده که بطور مؤثری سطح آنها را برای به دام انداختن باکتری افزایش می دهد. وچنانچه گفته شد؛ پس از فاگوسایت کردن باکتری متحرک شده و به نسج لمفاوی مجاور مهاجرت کرده تا نقش APC را به همراه کمک محرک های خود ایفا نمایند.

سلول های دندرایتیک فولیکولی[6]FDC: محل سکونت آنها در غدد لمفاوی و طحال در ناحیه فولیکول لمفاوی و در مجاورت B-Cell ها میباشد و از لحاظ منشأ و عملکرد ارتباطی با سلول های دندرایتیکی که عرضه کننده آنتی جن به T-Cell می باشند، ندارند. بلکه FDC کمپلکس آنتی جن - آنتی بادی را که در مواقعی همراه قطعات کمپلمان است را

2 Effector Cell
[2]T-helper
[3]Cytotoxicity T-lymphocyte
[4]Antigen presenting cell
[5]Co-stimulator
[6]Follicular Dendritic Cell

به دام انداخته و آنها را به B-Cell عرضه می کند بدین ترتیب B-Cell هایی که با میل پیوندی شدید تری ؛ کمپلکس آنتی جن - آنتی بادی را شناسایی کند، انتخاب شده و تکثر می یابند.

انساج لمفاوی:

نسج سیستم لمفاوی دونوع می باشد:

اولیه یا زایا: در این انساج ابتدا لمفوسایت ساخته شده و بلوغ پیدا می کند. و شامل موارد ذیل است ؛

الف) مغز استخوان **ب) تایموس[1]**

ثانویه یا محیطی: لمفوسایت ها پس از بلوغ در این انساج مستقر شده تا فعال شوند و با آنتی جن بیگانه برخورد نمایند که شامل موارد ذیل می باشند

الف) غدد لمفاوی[2] **ب) طحال[3]** **ج) نسج لمفاوی مخاطی[4]MALT**

مغز استخوان: مغز استخوان متشکل از دو نوع سرخ و زرد می باشد . پس از دوران بلوغ مغز سرخ استخوان در استخوان های دراز محل اصلی خون سازی (هماتوپوئزیس) می باشد. خون سازی از همان دوران جنینی در انسان آغاز می شود، در حدود روز 20 بارداری اولین سلول های خونی از جزایر خونی درمزودرم اطراف دیواره کیسه زرده منشأ میگیرند که موقتی میاشند اما بعداً گروهی از سلولهای بنیادی خونساز، از مزانشیم احاطه کننده آئورت در ناحیه ای مجاور مزونفرویک در حال تکامل به نام آئورت ــ گناد مزونفروس(AGM[5])، مشتق میشود . و در حدود روز 30 تعدادی از سلولهای پیش ساز خونی در کبد مستقر شده و در آنجا خون سازی صورت میگیرد و از حدود روز 70 خون سازی اصلی در مغز استخوان شروع می شود و تا زمان تولد و قبل از بلوغ تمام مغز استخوان خون سازی می کند ولی پس از بلوغ فقط مغز سرخ استخوان در استخوان های دراز، خون سازی می کند. اغلب سلول های قابل تشخیص مغز استخوان را سلولهای پیش ساز رده گرانولوسایتی، منوسایتی، لمفوسایتی، اریتروئیدی، پلاتلت ها (صفحات دموی) و سلول های استرومایی(سلول های اندوتلیال، فیبروبلاست، سلول های مزانشیم، اوستئوبلاست و اوستئوکلاست) تشکیل می دهند.

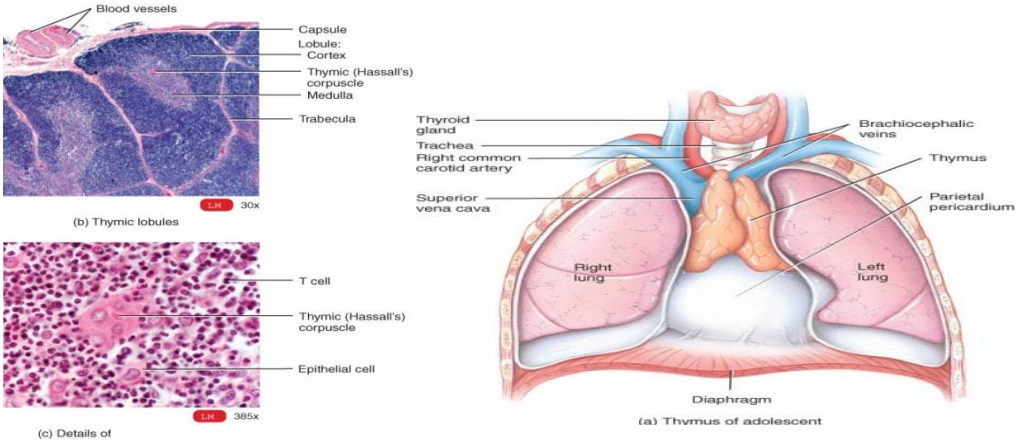
سلول های بنیادی خونساز HSC در مغز استخوان مارکر اختصاصی CD34 و Sca-1[6] رابیان می کنند.

تایموس: تایموس بین استرنوم سینه و پریکارد قلب در ناحیه مدیاستن قدامی قرار دارد. منشاء تایموس در هنگام تکامل جنین ،از فرورفتگی های اکتودرم میباشد . و تا قبل از بلوغ بزرگترین غده درون ریز بدن(70 گرم) را تشکیل می دهد ولی پس از بلوغ تحلیل رفته و بتدریج کوچک می شود(3گرم). تایموس از دولوب تشکیل شده و لوب توسط تیغه های میانی از جنس فیبر به لوبول های متعددی تقسیم می شود. هر لوبول دارای یک قسمت کورتکس و یک قسمت مدولا می باشد که قسمت کورتکس حاوی جمعیت متراکمی از سلول های T و ماکروفاژ است ولی قسمت مدولا که در رنگ آمیزی روشن تر

[1]Thymus
[2]Lymph Node
[3]Spleen
[4]Mucosal Associated Lymphoid Tissue
[5]Aort – gonad mesonephros
[6]Stem Cell Antigen-1

دیده می شود حاوی تعداد کمتری لمفوسایت می باشد. در ناحیه مدولا ساختارهایی سرخ رنگ (در رنگ آمیزی هماتوکسیلین) وبیضوی بنام اجسام هاسال[1] دیده می شود که احتمال می رود بقایای سلول های اپیتلیال در حال تخریب باشند. تایموس محل بلوغ لمفوسایت هایT ساخته شده در مغز استخوان می باشد. در تایموس تایموسایت هایی (سلول های T موجود در تایموس) که قادر به شناسایی آنتی جن های خودی با میل پیوندی پایین باشند از تیموس خارج شده وبرای برخورد با آنتی جن های بیگانه در اعضای لمفاوی دیگر مستقر میشوند. ولی تایموسایت هایی که قادر به شناسایی سلول های خودی نبوده و یا اینکه آنها را با میل پیوندی بالا شناسایی می کنند دچار فرایند آپاپتوزیس شده و از بین می روند.

نکته: در نوعی بیماری که بنام سندرم دی جرج یاد میشود ، بدلیل نقص جنی ، تایموس تکامل نیافته و بیماران از کمبودT-Cell رنج می برند.



شکل14-1: موقعیت آناتومیک تایموس، نواحی مدولا و کورتکس در لوبول پس از رنگ آمیزی در برش مقطعی از تایموس

غدد لمفاوی[2] : غدد لمفاوی در سرتاسر بدن پخش می باشند ولی در نقاطی خاص تجمع آنها بیشتر می باشد مثل: کشاله ران[3] ، زیر بغل[4]، ناحیه گردن[5] و اطراف پستان ها. از لحاظ مورفولوجی غدد لمفاوی شبیه لوبیا بوده و دارای یک قسمت فرورفته می باشد که لمف توسط عروق آوران[6] وارد غدد لمفاوی شده و از طریق عروق وابران[7] از آن خارج می شود. لمف همان قسمت مایع خون می باشد که در مجاورت سلولهای بدن از رگ خارج شده ، به فضای بین سلولی ریخته می شود و در این فضا، لمف توسط عروق لمفاوی برداشت شده و دوباره به جریان خون بازگردانیده می شود منتهی در مسیر

[1]Hassall's body
[2]Lymph Node
[3]Groin (inguinal)
[4]Armpit(axilla)
[5]Neck
[6]Afferent
[7]Efferent

برگشت لمف به جریان خون، عروق لمفاوی از اعضای لمفاوی عبور می کنند و چنانچه در داخل لمف عوامل پاتوجن وجود داشته باشند توسط اعضای سیستم لمفاوی مثل غدد لمفاوی برداشت می شوند. روزانه حدود 2 لیتر لمف به جریان خون باز می گردد و چنانچه در مسیر این بازگشت خللی وارد شود فرد دچار خیز یا ادم[1] می شود.

از لحاظ ساختاری غدد لمفاوی دارای سه قسمت می باشند:

پارا کورتکس (کورتکس خارجی): بیشتر شامل FDC، B-Cell و ماکروفاژ می باشد.

کورتکس: بیشتر شامل T-Cell و سلول های دندریتیک می باشد.

مدولا: بیشتر شامل B-Cell، پلاسماسل و ماکروفاژ می باشد.

غدد لمفاوی دارای مجراهایی به نام HEV می باشد که دارای لیگاند CCL19 و CCL21 می باشند. نحوه لانه گزینی[2] سلول های T به این صورت است که T-Cell ها داری گیرنده[3] CCR7 بوده و لیگاندهای CCL19 و CCL21 را شناسایی می کنند بنابراین T-Cell ها جذب نواحی HEV در کورتکس می شوند . از طرفی B-Cellها گیرنده CCR5 را بیان می کنند که لیگاند CXCL13 را در نواحی پاراکورتکس و مدولا شناسایی نموده ، بنابراین در این نواحی تجمع پیدا می کنند.

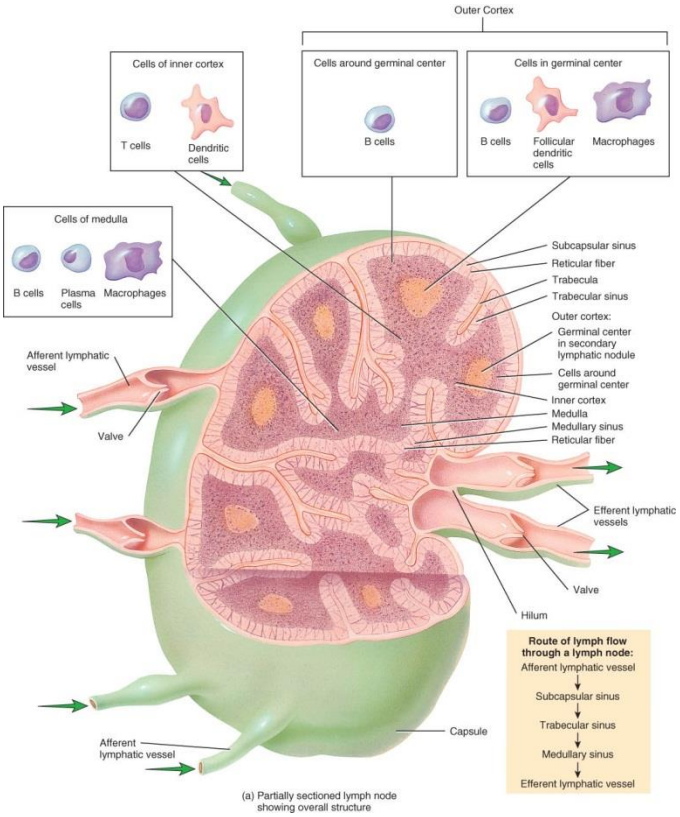
غدد لمفاوی توسط کپسولی از جنس فایبر احاطه شده است و در زیر کپسول کورتکس خارجی قرار دارد. کورتکس خارجی حاوی فولیکول های اولیه است که فاقد مراکز زایا[4] می باشند. این فولیکول ها هنوز با آنتی جن بر خوردی نداشته اند ولی پس از برخورد با آنتی جن مراکز زایا در این فولیکول ها به وجود آمده که از این به بعد به آنها فولیکول های ثانویه گفته می شود.

نکته: فولیکول های اولیه نواحی غنی از سلول های B می باشند.

نکته: در بسیاری از عفونت ها سایتوکینی به نام TNF[5] ترشح شده که این سایتوکین با تاثیر بر تکثر و رشد لکوسایت های موجود در غدد لمفاوی باعث افزایش حجم غدد لمفاوی و همچنین افزایش تعداد آنها در نقاط مختلف بدن که درگیر با عامل پاتوجن هستند می گردد.

---

[1]Edema
[2]Homing
[3]Receptor
[4]Germinal Center
[5]Tumor Necrosis Factor



شکل 15-1: تصویر شیماتیک از یک غده لمفاوی همراه قسمت های مختلف آن

طحال[1]: برخلاف بقیه اعضای لمفاوی که علیه پاتوجن هایی که از راه پوست، تنفس و یا گوارش وارد می شوند مبارزه می کنند، طحال بیشتر برای حذف آنتی جن هایی است که مستقیماً وارد خون می شوند عمل می کند. از لحاظ آناتومیکی طحال در قسمت بالای سمت چپ شکم ، زیر قبرغه های 10،9و11 واقع است و دارای وزنی حدود 150 گرم می باشد. خون رسانی طحال از طریق شریان طحالی در ناحیه ناف طحال صورت گرفته و پس از ورود به طحال، این شریان به انشعابات متعددی تقسیم می شود. از لحاظ ساختاری طحال دارای دوقسمت می باشد.

پالپ سفید: بیشتر شبیه غدد لمفاوی بوده و دارای نواحی مجزا حاوی سلول های B وT می باشد.

پالپ سرخ: بیشتر بعنوان یک صافی برای برداشت اریتروسایت ها و پلاتلت های پیر و آلوده عمل می کند.

پالپ سفید: در برش عرضی از طحال و پس از رنگ آمیزی آن ، تعداد خیلی زیاد لمفوسایت، اطراف انشعابات شریانی دیده می شود که به آنها صفحات لمفوئیدی دور شریانچه ای[2] گفته می شود که غنی از T-Cell می باشند. از این شریان ها تعدادی انشعابات دیگر جدا شده و از میان صفحات لمفوئیدی عبور کرده و ایجاد سینوس هایی بنام سینوس های ناحیه

[1]Spleen
[2]Periarteriolar Lymphoid Sheets

حاشیه ای[1] می کنند. در بین سینوس حاشیه ای و صفحات لمفوئیدی، فولیکول هایی غنی از B-Cell وجود دارد که این سلول های B از لحاظ عملکردی و مارکرهای اختصاصی ، با سلول های B ناحیه حاشیه ای متفاوت می باشند.

نکته : مثل غدد لمفاوی لانه گزینی B-Cell به این صورت است که ، B-Cell گیرنده CCR5 را بروز داده و لیگاند CXCL13 را در ناحیه فولیکولی شناسایی کرده بنابراین جذب آنجا می شوند ولی T-Cellها CCR7 را بروز داده و لیگاند CCL19 و CCL21 را در ناحیه صفحات لمفوئیدی دور شریانچه ای شناسایی نموده بنابراین جذب آن ناحیه می شوند.

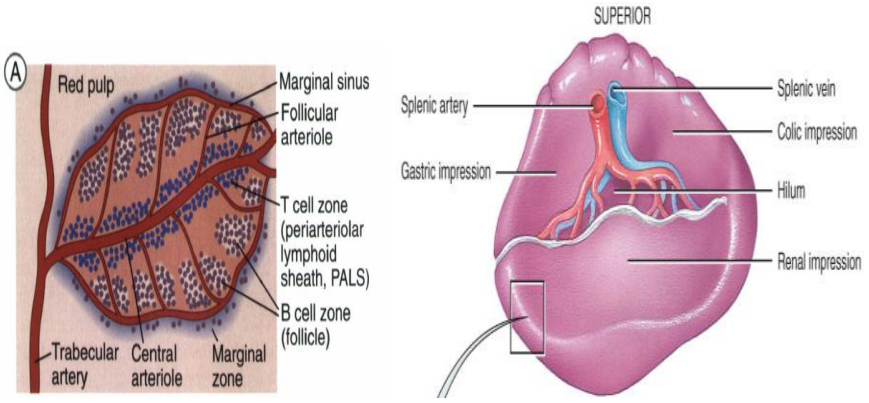
نکته: مرز بین پالپ سفید و سرخ به ناحیه حاشیه ای[2] معروف است و حاوی B-Cell بوده که به نام سلول های B ناحیه حاشیه ای یاد می شوند.

پالپ سرخ: انشعابات شریان طحالی در نهایت ، سینوس های طحال را می سازد که این سینوس ها حاوی تعداد زیادی اریتروسایت، ماکروفاژ، سلول های دندریتیک، پلاسماسل و لمفوسایت می باشند. اریتروسایت ها و پلاتلت های پیر و فرسوده و همچنین باکتری ها ، حین عبور از سینوس های پالپ قرمز برداشت شده و از جریان خون حذف می شوند از این جهت طحال بعنوان یک صافی برای خون عمل می کند.

نکته: طحال جایگاه اصلی فاگوسایت باکتری های پوشیده شده با آنتی جن است(اپسونیزاسیون) .

نکته: حدود 1/3 پلاتلت ها در طحال ذخیره می شود بنابراین در بیماری هایی که طحال بزرگ[3] می شود تعداد پلاتلت ها در گردش خون کم می شود و برعکس زمانی که طحال برداشته می شود[4] تعداد پلاتلت ها در گردش خون زیاد می شود.

نکته:در بعضی از بیماری ها مثل بتا تالاسمی ماژور برای کاهش عوارض بیماری نیاز است اسپلنکتومی انجام شود از این جهت در بیمارانی که طحال به هر دلیلی برداشته می شود و فاقد طحال می باشند این افراد مستعد عفونت های باکتری های کپسول دار مثل پنموکک و مننگوکک می شوند.



شکل 16-1: نمای شماتیک طحال و شریان آن، موقعیت نواحی سلول هایB , T

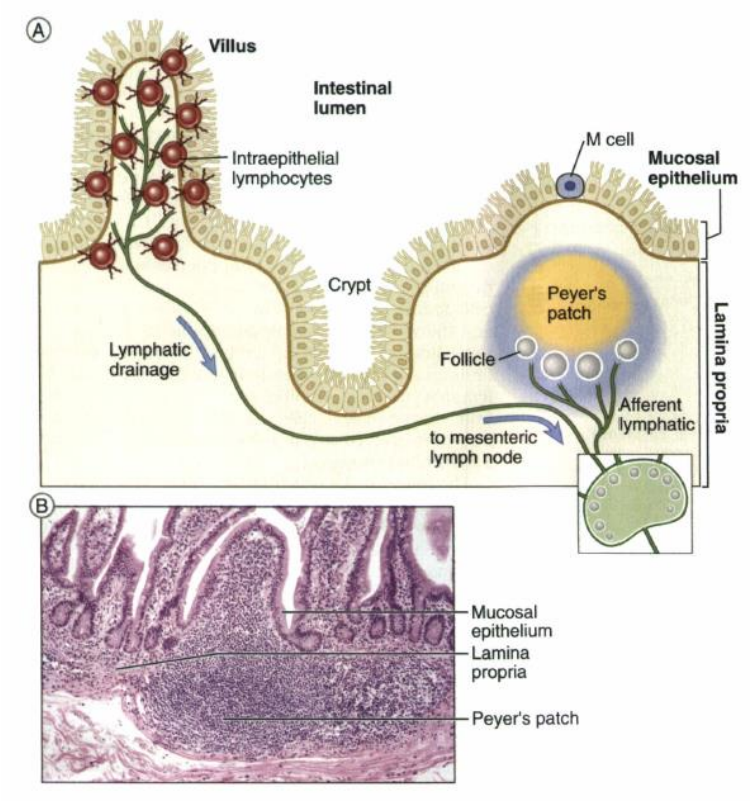
[1]Marginal Sinus
[2]Marginal Zone
[3]Splenomegaly
[4]Spleenectomy

سیستم لمفاوی مخاطی MALT[1]: سیستم مخاطی هضمی و تنفسی دارای بافت لمفاوی متعددی می باشند که بیشتر آنها در مناطق ذیل دیده می شود:

1) لوزه ها[2] (تانسل)در حلق 2) گره های لمفاوی[3] در سرتاسر نسج هضمی و تنفسی 3) پلاک های پی یر(peyer) در قسمت غشای بالخاصه(lamina propria) سیستم هضمی .

پلاک های پی یر: در جدار سیستم هضمی، لمفوسایت ها در سه ناحیه، درون اپیتلیال، آستر مخاط و پلاک های پی یر تجمع یافته اند ، در انسان اکثر سلول های درون اپیتلیالی از نوع T می باشند در حالی که سلول های آستر مخاط از نوع B و پلاسما سل می باشند. علاوه بر دونوع درون اپیتلیالی و آستر مخاطی ، لمفوسایت ها در یک قسمت متمرکز و سازمان یافته ای بنام پلاک های پی یر تجمع یافته اند که شبیه فولیکول های لمفاوی طحال و غدد لمفاوی ، غنی از سلول های B می باشد.

پلاک های پی یر توسط سلول های اختصاص یافته ای بنام سلول های M[4] پوشانیده شده اند که به طور فعال ماکرومولکول موجود در دستگاه گوارش را به صورت پنوسایتوزس بلعیده و به پلاک های پی یر تحویل می دهند.



شکل 17-1: سیستم ایمنی مخاطی؛A نمایی شماتیک از محتویاط سلولی سیتم ایمنی مخاطی روده؛ B عکس بافت لمفاوی روده انسان. تجمعات وسیعی از این بافت لمفاوی نشان داده شده در سرتاسر سیستم هضمی و تنفسی دیده می شود.

[1]Mucosal assc
[2]Tonsil
[3]Adenoid
[4]Membranous

تلگرام https://t.me/Khu_medical

فصل دوم

آنتی جن ها و آنتی بادی

آنتی جن:

بطور کلی هر ماده ای که سیستم ایمنی بدن آن را شناسایی نماید و علیه آن آنتی بادی تولید نماید آنتی جن نام دارد. سیستم ایمنی قادراست هم آنتی جن های بیگانه و هم آنتی جن های خودی را شناسایی نماید. آنتی جن از لحاظ ماهیت می توانند پروتئینی، پلی ساکاریدی و یا از جنس اسید های نوکلوئیک باشند ولی قدرت آنتی جنی نوع پروتئنی از بقیه بیشتر بوده و سیستم ایمنی را با قدرت بیشتری تحریک می کند.

آنتی جن های بیگانه اغلب شامل موارد ذیل می باشند: کپسول باکتری، دیواره سلولی، فلاجیل، پیلی، توکسین ، پوشش وایروس، و یا اجزاء غشاء پلاسمایی.

بطور معمول آنتی بادی بر علیه کل باکتری تولید نمی شود بلکه علیه قسمت خاص آن که خاصیت آنتی جنیک دارد تولید می شود به این قسمت ها اصطلاحاً اپی توپ[1] گفته می شوند. از طرفی هر باکتری ممکن است چند نوع اپی توپ اختصاصی داشته باشد و سیستم ایمنی علیه هر کدام از این اپی توپ یک آنتی بادی خاص تولید نماید و بنابرین علیه یک باکتری چند نوع آنتی بادی تولید شود.

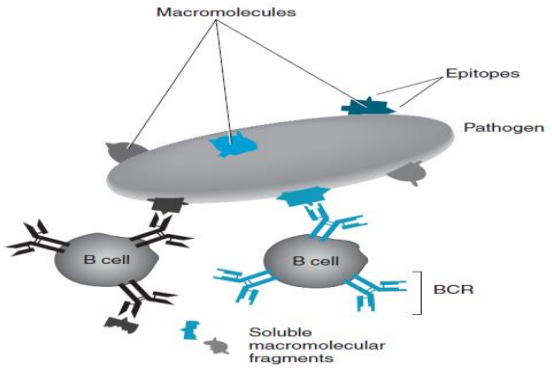
نکته: به آنتی جن هایی که فقط یک اپی توپ داشته باشند هاپتن گفته می شود که این آنتی جن ها به تنهایی قادر به تحریک سیستم ایمنی نیستند.

نکته: آنتی جن ها بر اساس نوع تحریک سیستم ایمنی ، اسامی مختلفی می گیرند:

الف) ایمنوجن: آنتی جن هایی که قادر به تحریک سیستم ایمنی هستند.

ب) آلرجن: آنتی جن هایی که سیستم ایمنی را بیش از اندازه تحریک نموده و باعث ایجاد حساسیت می شوند.

ج) هاپتن: آنتی جن هایی که فقط یک ظرفیت (یک والانسه) داشته و قادر به تحریک سیستم ایمنی نیستند ولی توسط سیستم ایمنی شناسایی می شوند.



شکل1-2: انواع مختلف اپی توپ در سطح یک آنتی ژن که علیه هرکدام ممکن است یک آنتی بادی مجزا تولید شود.

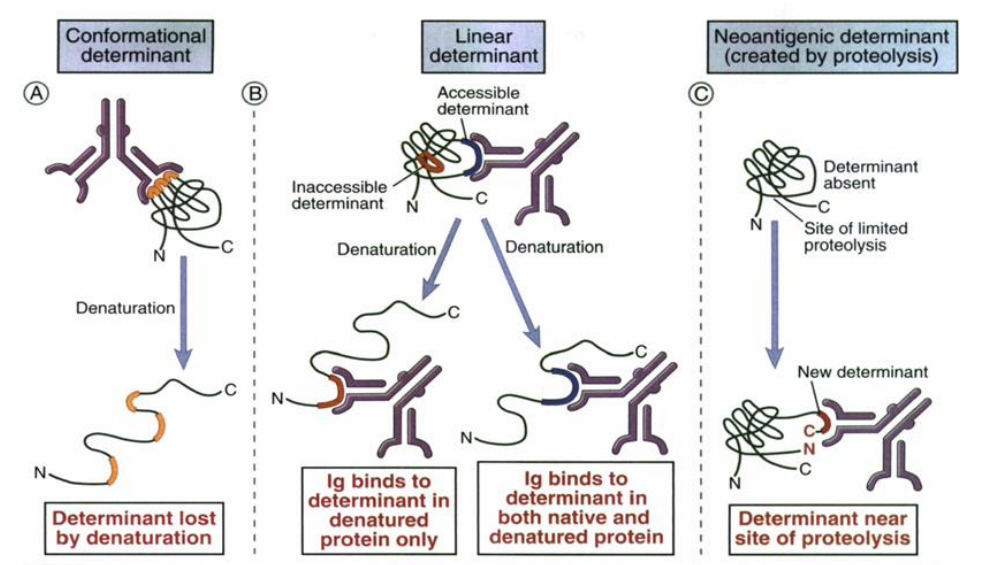
[1]Epitope

از لحاظ ساختاری چند نوع اپی توپ(شاخص) برای آنتی جن وجود دارد :

نوع خطی[1]: به اپی توپی گفته می شود که از پشت سر هم قرار گرفتن چند بنیان اسید آمینه تشکیل می شود و چنانچه در سطح خارجی مولکول باشد، آنتی بادی در حالت چین خورده مولکول نیز قادر به اتصال خواهد بود ولی در صورتی که در ساختمان درونی مولکول باشد باید ابتدا دناتوره[2] شود تا آنتی بادی بتواند با آن اتصال برقرار کند.

نوع فضایی یا شکلی[3]: به شاخص هایی(اپی توپ) گفته می شود که اسید های آمینه ایجاد کننده آن کنار یک دیگر قرار ندارند و فقط زمانی دیده می شوند که مولکول پروتئینی ساختمان اصلی خود را داشته باشد. در صورتیکه مولکول به هر علتی دناتوره شود ساختار این نوع شاخص ها بهم ریخته و قادر به تحریک سیتم ایمن نخواهند بود.

نوع جدید[4]: به شاخص های آنتی جنیکی گفته می شود که اسید های آمینه آنها در حالت طبیعی کنار یکدیگر قرار ندارند بلکه پس از اینکه مولکول دناتوره شود کنار هم قرار گرفته و خاصیت آنتی جنیک پیدا می کنند.



شکل2-2: انواع شاخص های آنتی جنیک(اپی توپ) از لحاظ ساختاری. A:شکلی. B:خطی. C:جدید.

آنتی بادی:

آنتی بادی ها، گلایکوپروتئین هایی هستند که حدود 20 % پروتئین های پلاسما را تشکیل می دهند. آنتی بادی ها توسط لنفوسیت هایB در پاسخ به آنتی جنها تولید می شوند .آنتی بادی ها در الکتروفورز پروتئین های سرم در باند گاما γ قرار می گیرند و به همین دلیل به آنها گاما گلوبولین گفته می شود .البته برخی در باند β قرار می گیرند و به همین دلیل امروزه از لفظ ایمونوگلوبولین به جای γ-گلوبولین استفاده می شود.

[1]Linear
[2]Denaturation
[3]Conformational
[4]NeoAntigen

آنتی بادی ها به دوصورت یافت می شوند: 1) متصل به سطح B-Cell ، که بعنوان گیرنده عمل نموده و پس از اتصال آنتی جن به آنها B-Cell فعال می شود. 2) ترشحی ،که از پلاسماسل ترشح شده و به جریان خون و بافتهای مخاطی وارد شده و با اتصال به انواع مختلف آنتی جن و توکسین ها ، آنها را خنثی می کند.

نکته : تفاوت آنتی بادی های ترشحی با نوع متصل به غشاء بخاطر تفاوت درتوالی اسیدهای آمینه ناحیه کربوکسیلی زنجیره سنگین مربوط می شود. درآنتی بادی های ترشحی انتهای کربوکسیلی زنجیره سنگین دارای اسیدهای آمینه آبدوست(هیدروفیل) است در حالی که آنتی بادی های متصل به غشاء، در انتهای کربوکسیلی زنجیره سنگین خود دارای اسید های آمینه آبگریز(هیدروفوب) می باشند که این انتها باعث قرار دادن آنتی بادی در داخل غشاء پلاسمایی می شود.

از طرف دیگر آنتی بادی ها را به دو گروه پولی کلونال[1] و منوکلونال[2] تقسیم می نمایند. آنتی بادی های پولی کلونال به مجموع چند آنتی بادی گفته می شود که اپی توپ های مختلف آنتی جن ها را شناسایی می کنند ولی در مقابل، آنتی بادی های منوکلونال به یک نوع خاصی از آنتی بادی گفته می شود که 1) خلوص بالایی دارد. 2) یک نوع آنتی بادی را شامل می شوند. 3) یک نوع خاص اپی توپ را شناسایی می کند. 4) توسط یک کلون خاصی از B-Cell ها ترشح می شوند. امروزه آنتی بادی های منوکلونال را که کاربرد درمانی و تشخیصی بالایی دارند به روش های اینجینری جنتیک[3] تولید می نمایند.

روش تهیه آنتی بادی های منوکلونال بطور اختصار:

این کار اولین بار توسط دو دانشمند به نام های Georg Kohler وMilestein Geson در سال 1975 ابداع شد. بدین ترتیب که ابتدا یک نوع اپی توپ خاص از آنتی جن را به صورت خالص تهیه نمودند و سپس آن را به موش آزمایشگاهی تزریق نمودند، پس از مدتی در طحال موش B-Cell اختصاصی علیه آن اپی توپ تولید می شد و آنها این B-Cell ها را از طحال موش برای تولید انبوه آنتی بادی جدا نمودند منتهی B-Cellها دارای عمر کوتاهی بودند و پس از چند بار کشت در محیط کشت[4] دچار مرگ می شدند برای رفع این مشکل دانشمندان از B-Cell میلومایی که نامیرا بودند استفاده کردند. بدین ترتیب که سلوهای تولید کننده آنتی بادی خاص را با سلول های میلومایی، هیبرید نمودند و B-Cell ایجاد شد که هم خاصیت نامیرا بودن را داشتند و هم می توانستند تولید یک نوع آنتی بادی خاص را بنمایند، به این سلولها سلول های هیبریدونما و به آنتی بادی های تولید شده منوکلونال می گویند.

آنتی بادی های منوکلونال کاربرد های درمانی و تشخیصی فراوانی پیدا کرده اند .

کاربرد تشخیصی: سنجش میزان انواع هورمون ها در خون و ادرار و تولید کیت های تعیین گروپ خونی .

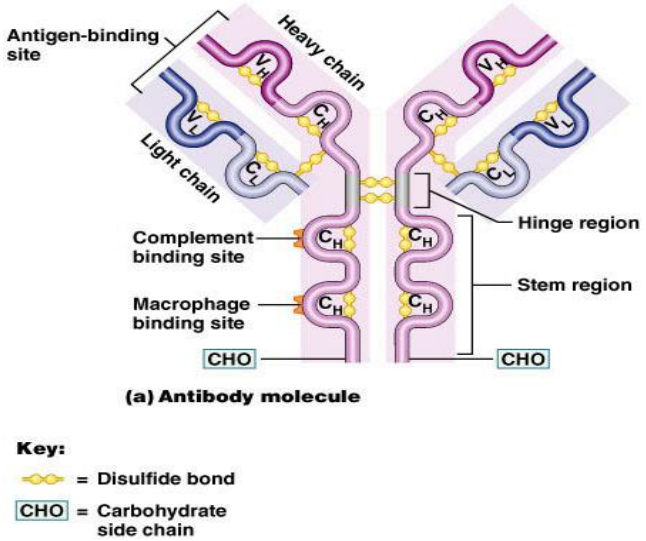
کاربرد درمانی: استفاده ار آنتی CD20 ، برای درمان لوکمی نوع B-Cell، آنتی بادی ضد گیرنده (receptor) فاکتور رشد اپیدرمی نوع 2 در درمان سرطان سینه.

---

[1]Polyclonal
[2]Monoclonal
[3]Genetic engineering
[4]Culture

ساختمان آنتی بادی:

هرمولکول آنتی بادی دارای ساختمانی شبیه حرف Y انگلیسی است و از چهار زنجیره تشکیل شده است که دوتای آن سنگین(H) و دوتای آن سبک(L) می باشند. قسمت انتهای آنتی بادی که ناحیه FC نامیده می شود فقط از زنجیره سنگین تشکیل شده است. زنجیره سبک و سنگین توسط پیوندهای دی سولفیدی به هم متصل شده اند، درزنجیره سبک و سنگین نواحی فرو رفته ای وجود دارد که تحت نام دومن[1] یاد می شوند و در داخل هر دومن معمولاً پیوندهای دی سولفیدی وجود دارد و بسته به نوع آنتی بادی تعداد این دومن ها متفاوت است. به دومن ثابت موجود در زنجیره سبک CL و به دومن های ثابت موجود در زنجیره سنگین CH گفته می شود . همچنین به دومن متغیر زنجیره سبک VL و به دومن متغیر زنجیره سنگین VH گفته می شود. ناحیهN ترمینال زنجیره سبک و سنگین، یک شکل فضایی را ایجاد می کنند که اپی توپ آنتی جن را شناسایی کرده و به آن ناحیه پاراتوپ یا متغیر(V) گفته می شود. ناحیه متغیر درانواع مختلف آنتی بادی متفاوت می باشد؛ ولی در مولکول آنتی بادی انتهای C ترمینال زنجیره سنگین ایجاد ساختار FC را می کند که در تمام مولکول های آنتی بادی یکسان است و عمل آن بیشتر مربوط به انجام کارهای اجرایی آنتی بادی(Ab)، مثل عملی اپسونیزاسیون و یا فعال کردن سیستم کمپلمان میشود. در مولکول آنتی بادی ناحیه ای وجود دارد به نام لولا[2](چپراس) که متصل کننده دو ناحیه متغیر و ناحیه ثابت به هم است.

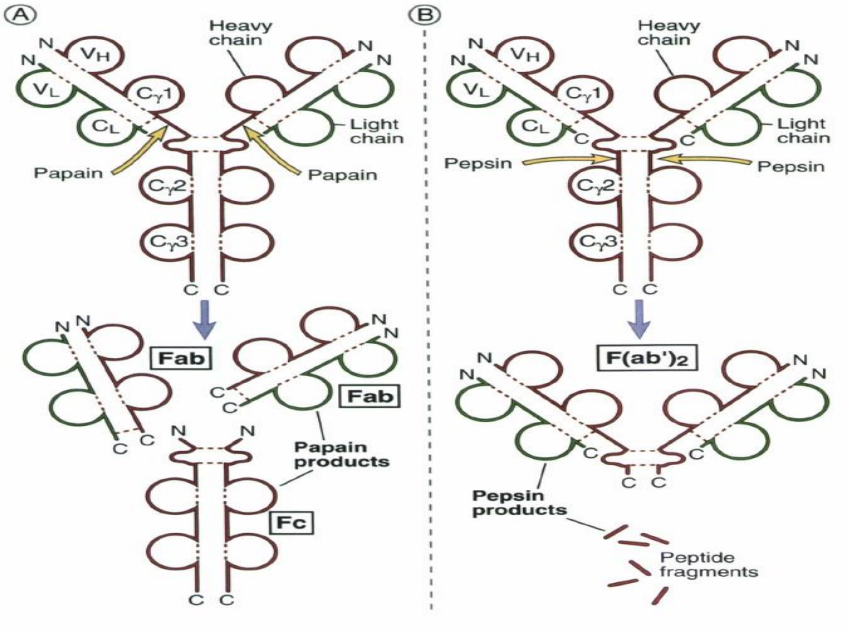


شکل 3-2: ساختمان ملکول آنتی بادی، زنجیره سبک و سنگین، پیوند های دی سولفیدی که باعث اتصال زنجیره ها به هم و همچنین تشکیل دومن می شوند، ناحیه لولا، ناحیه اتصال به سیستم کمپلمان و ماکروفاژ

اگر IgG(ایمنوگلوبین نوع G) خرگوش با انزایم پاپائین مجاور شود و پروتئولیز محدود صورت گیرد؛ این انزایم بر ناحیه لولا اثر کرده و IgG را به 3 قطعه مجزا تقسیم می کند، دو قطعه مشابه یکدیگر بوده و قادرند به آنتی جن متصل شوند و از این رو به آنها Fab گفته می شود . قطعه دیگر که Fc نامیده میشود فقط حاوی قسمت انتهایی زنجیره سنگین می باشد و

[1]Domain
[2]Hinge

تمایل دارد تجمع یافته و تشکیل بلور بدهد از همین رو به قطعه Fc(قطعه کریستالیزه شونده) می گویند. ولی در صورتی که بجای پاپائین از انزایم پپسین استفاده شود پروتئولیز آنتی بادی در ناحیه پایین تر از لولا انجام می شود و تولید قطعه ای بنام F(ab´)2می کند این قطعه همانند مولکول کامل ایمنوگلوبین(آنتی بادی) دارای دو جایگاه اتصال به آنتی جن است و در واکنش های سرولوجی می تواند ایجاد واکنش های ثانویه نماید(شکل 4-2).



شکل 4-2: محل اثر دو انزایم پاپائین و پپسین و تشکیل قطعات Fab ، Fc و F(ab´)2.

زنجیره سنگین و سبک دارای انواع مختلف می باشند:

دونوع زنجیره سبک وجود دارد: 1) کاپا(جنآن روی کروموزوم 2قرار دارد). 2) لامبدا(جنآن رو کروموزوم 22قرار دارد). در کل ایمنوگلوبین های بدن 60٪ حاوی کاپا و 40٪ حاوی لامبدا می باشند.

نکته: در یک مولکول آنتی بادی ، همزمان زنجیره کاپا و لامبدا باهم وجود ندارند.

زنجیره سنگین پنج نوع می باشد و جنآن روی کروموزوم 14 قرار دارد: 1) موμ. 2) گاماγ. 3) آلفاα. 4) دلتاδ . 5) اپسیلونε.

بطور کلی پنج نوع ایمنوگلوبین وجود دارد که بر اساس نوع زنجیره سنگین موجود در آنها نام گذاری می شوند.

IgM(دارای زنجیره سنگین موμ)

IgG(دارای زنجیره سنگین گاماγ)

IgA(دارای زنجیره سنگین آلفاα)

IgD(دارای زنجیره سنگین دلتاδ)

IgE(دارای زنجیره سنگین اپسیلونε)

به این کلاس های مختلف ایمنوگلوبین ایزوتایپ گفته می شود که هر کدام از اینها دارای زیر کلاس های دیگر نیز میباشند. مثلاً انسان دارای چهار نوع IgG(IgG1، IgG2، IgG3،IgG4) و دونوع IgA(IgA1، IgA2) می باشد.

IgM:

این آنتی بادی به دو شکل منومر و پنتامر دیده می شود. نوع منومر متصل بر سطح B-cell می باشد و بعنوان گیرنده آنتی جن و تحریک B-Cell برای تبدیل به پلاسماسل جهت تولید آنتی بادی عمل می کند. این آنتی بادی حدود 5-10٪ از کل آنتی بادی های سرم را تشکیل می دهد و اولین آنتی بادی می باشد که علیه آنتی جن بیگانه تولید می شود. وجود تیتر بالای این آنتی بادی علیه یک آنتی جن خاص نشان دهنده مرحله حاد عفونت است. این آنتی بادی قادر به تحریک کمپلمان از مسیر کلاسیک بوده و می تواند آن را فیکس نماید. پنج منومر IgM از ناحیه Fc خود توسط قطعه ای بنام زنجیره[1]j به هم متصل شده و نوع پنتامر را ایجاد می کنند که شکل پنتامر، بدلیل بزرگ بودن ، نمی تواند از جدار عروق عبور کند و معمولاً در ترشحات نیز دیده نمی شود؛ قطعهJ نسبت به مواد احیا کننده، مثل[2]2ME حساس بوده و در صورت برخورد با آن تخریب شده و ساختمان پنتامر IgM دناتوره می شود. این آنتی بادی علیه آنتی جن های گروپ خونی تولید می شود و در تزریق خون ناسازگار، با آنتی جن های گروپ خون واکنش داده و مسئول واکنش همولایتیک حاد در ناسازگاری تزریق خون می باشد. نیمه عمر این آنتی بادی در خون حدوداً 5 روز می باشد و نمی تواند از جفت عبور کند.

IgG:

این آنتی بادی به شکل منومر بوده و بیشترین مقدار آنتی بادی(80-85٪) را در سرم نسبت به سایر آنتی بادی ها تشکیل می دهد . این آنتی بادی قادر به عبور از جفت میباشد و می تواند در جنین و نوزاد ایمنی غیر فعال را ایجاد نماید. در ناسازگاری Rh بین مادر و جنین، IgG تولید شده علیه Rh از جفت عبور کرده و باعث تخریب اریتروسایت های جنین میشود و می تواند باعث [3]HDN در جنین شود. در مراحل مزمن بیماری حداکثر آنتی بادی علیه آنتی جن بیگانه از این نوع می باشد و تیتر بالای این آنتی بادی علیه یک آنتی جن خاص، نشان دهنده مزمن بودن بیماری است. این آنتی بادی قادر است کمپلمان را از مسیر کلاسیک فعال (نوع IgG1، IgG2، IgG3) و آن را فیکس نماید. نیمه عمر این آنتی بادی 23 روز می باشد. این آنتی بادی از ناحیه Fc خود دارای گیرنده بر سطح ماکروفاژ می باشد. و از این طریق به فرآیند اپسونیزاسیون(بلعیده شدن آنتی جن به کمک آنتی بادی یا اجزاء سیستم کمپلمان) کمک می کند.

IgA:

این آنتی بادی به دو صورت منومر و دایمر دیده می شود. نوع دایمر آن بیشتر در ترشحات، مخصوصاً در ترشحات سیستم هضمی دیده می شود. و نوع منومر آن حدوداً15٪ از آنتی بادی های سرم را تشکیل می دهد. این آنتی بادی سیستم کمپلمان را از مسیر آلترناتیو فعال می نماید و نمی تواند سیستم کمپلمان را فیکس نماید. اصلی ترین عملکرد IgA در

[1]J Chain
[2]2 Merapto Ethanol
[3]Hemolytic disease neonatal

غشای مخاطی، اتصال به آنتی جن های بیگانه و جلوگیری از ورود آن ها به درون بدن می باشد. نیمه عمر این آنتی بادی در بدن 6 روز می باشد.

IgD:

این آنتی بادی مقدار کمی از آنتی بادی های سرم را تشکیل می دهد(تقریباً 0.2٪) و دارای دو نوع می باشد 1) به صورت آزاد در سرم. 2) متصل به سطحB-Cell. این آنتی بادی سیستم کمپلمان را از مسیر آلترناتیو فعال می نماید و نیمه عمر آن در سرم 3 روز می باشد.

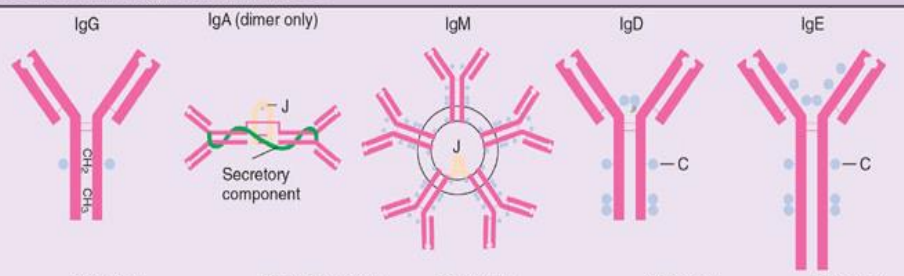
IgE:

کمترین میزان آنتی بادی های موجود در سرم مربوط به این آنتی بادی می باشد(حدود 0.002٪). این آنتی بادی کمپلمان را از مسیر آلترناتیو فعال می نماید و میزان آن در عفونت های پرازیتی در سرم بالا می رود. این آنتی بادی از ناحیه Fc خود به ماست سل متصل شده و باعث آزاد شدن هیستامین موجود در آن می شود و از این جهت در ایجاد واکنش های حساسیتی (واکنش های ازدیاد حساسیت نوع اول) و شوک آنافیلاکسی دخیل می باشد .

نکته: چون میزان IgE در سرم پایین می باشد با روش های معمول رسوبی مثل SRID نمی توان آن را اندازه گیری نمود و برای این کار از روش های پیشرفته تر مثل Elisaباید استفاده نمود.

TABLE 15.2

Characteristics of the Immunoglobulin (Ig) Classes



	IgG	IgA (dimer only)	IgM	IgD	IgE
	Monomer	Dimer, Monomer	Pentamer	Monomer	Monomer
Number of Antigen Binding Sites	2	4 2	10	2	2
Molecular Weight	150,000	170,000–385,000	900,000	180,000	200,000
Percent of Total Antibody in Serum	80%	13%	6%	1%	0.002%
Average Life in Serum (Days)	23	6	5	3	2.5
Crosses Placenta?	Yes	No	No	No	No
Fixes Complement?	Yes	No	Yes	No	No
Fc Binds To	Phagocytes	Phagocytes	B lymphocytes	B lymphocytes	Mast cells and basophils
Biological Function	Long-term immunity; memory antibodies	Secretory antibody; on mucous membranes	Produced at first response to antigen; can serve as B-cell receptor	Receptor on B cells	Antibody of allergy; worm infections

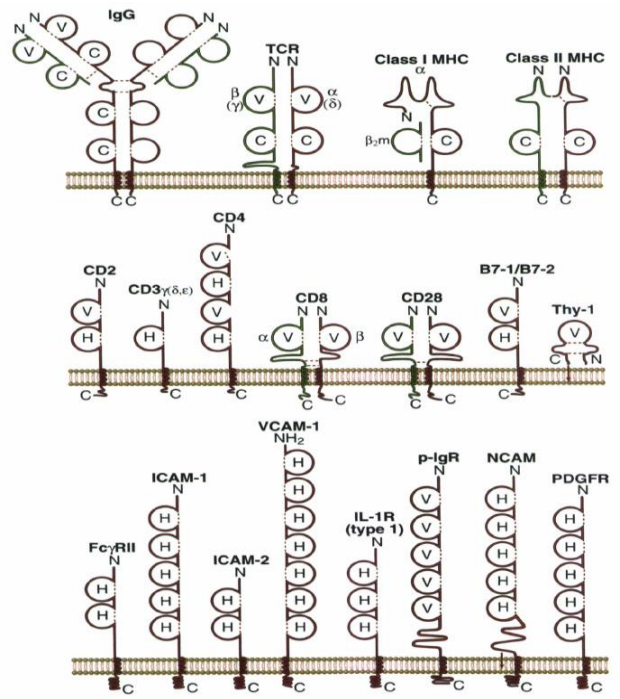
C = carbohydrate.
J = J chain.

شکل5-2: انواع مختلف ایمنوگلوبین، ساختمان و عملکرد آنها.

ابر خانواده ایمنوگلوبولینی[1]:

این خانواده که شامل اینتگرین ها ، سلکتین و مولکول های چسبان[2] می باشند، باید حداقل 15٪ از لحاظ ردیف های اسید های آمینه و ساختمان، شبیه ایمنوگلوبولین ها باشند. برای اینکه یک پروتئین جزء خانواده ایمنوگلوبولین ها بشمار آید، نیاز به وجود یک دومن ایمنوگلوبولینی دارد. این دومن ها دارای بنیان های اسید آمینه می باشند که در همه آنها ثابت بوده و زنجیره پلی پپتیدی را بنحوی چین می دهند که ساختمان سوم آنها شبیه مولکول ایمنوگلوبولینی می گردد. در شکل زیر نمونه چند مولکول که جزء خانواده ایمنوگلوبولین ها به حساب می آیند، آورده شده است(شکل6-2).

[1] Immunoglobulin superfamily
[2] Adhesion Molecule



شکل6-2: ابر خانواده ایمنوگلوبولینی

واکنش های اولیه و ثانویه در برابر آنتی جن های بیگانه:

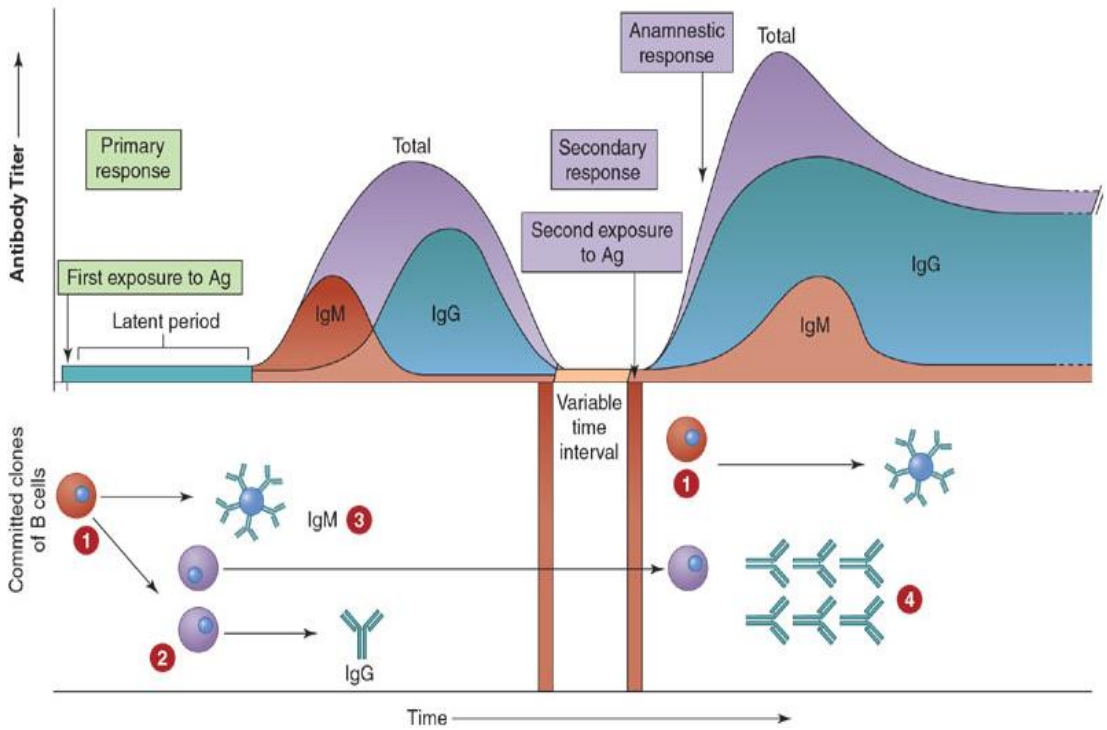
واکنش اولیه:

این واکنش در اولین برخورد آنتی جن بیگانه با سیستم ایمنی ایجاد می گردد و آنتی بادی ایجاد شده علیه پاتوجن،IgM بوده که تیتر آن در همان روز های اولیه برخورد با آنتی جن افزایش می یابد و این تیتر نشان دهنده حاد بودن بیماری خواهد بود. نکته دیگر اینکه در اولین برخورد آنتی جن با سیستم ایمنی چند ساعت تا چند روز طول می کشد تا آنتی بادی تولید شود، که به این مدت زمان لازم برای تولید آنتی بادی دوره یا فاز تاخیری[1] می گویند.

واکنش ثانویه:

این واکنش زمانی ایجاد می گردد که آنتی جن برای بار دوم توسط سیستم ایمنی شناسایی گردد. در این واکنش بدلیل وجود سلول های حافظه[2] ، تولید آنتی بادی سریع تر شروع شده و میزان آن نسبت به بار اول بیشتر و شدیدتر می باشد و آنتی بادی تولیدی، بیشتر از نوع IgG می باشد و همچنین تیتر بالای این آنتی بادی نشان دهنده مزمن بودن بیماری است. نکته قابل توجه در این واکنش این است که بدلیل وجود سلول های حافظه، فاز تاخیری برای تولید آنتی بادی وجود ندارد(شکل 7-2).

[1]Latent Period
[2]Memory Cells



شکل 7-2: واکنش های اولیه و ثانویه در برخورد با آنتی ژن و تولید آنتی بادی

تلگرام https://t.me/Khu_medical

فصل سوم

کمپلکس اصلی سازگار نسجیMHC[1]:

T-Cell برای اینکه فعال شود و بتواند آنتی جن بیگانه را شناسایی کند نیازمند عرضه این آنتی جن ها توسط سلول های عرضه کننده آنتی جن، (APC[2]) در حضور مولکول های MHC می باشد. MHCمولکول هایی پلی مورف هستند که در سطح سلول های عرضه کننده آنتی جن ظاهر شده و دارای قسمت هایی می باشند که پپتید های آنتی جن بلعیده شده توسط ماکروفاژ به گیرنده سلول های T[3] عرضه می شود. دو نوع اصلی از مولکول های MHC وجود دارد، بنام های MHC(I) و MHC(II)، بطوری که نوع I آنتی جن های پپتیدی را که درون سلولی(سایتوزولی) هستند به نوعی از سلول های T بنام سایتوتوکسیک[4] عرضه نموده و نوع II آنتی جن های خارج سلولی را به نوعی از سلول های T بنام سلول های T کمک کننده[5] عرضه می کند. البته نوع دیگری از مولکول های MHC بنام نوع III وجود دارد که وظیفه آنها عرضه آنتی جن نیست ولی جن آنها از لحاظ موقعیت در محل جنMHC های نوع اصلی(I و II) قرار دارد و بیشتر شامل اجزای کمپلمان، مثل C4a ، C4b و مواردی همچون TNFα، LT و Hsp70 می باشد.

از آنجایی که اولین بار مولکول های MHC را روی لکوسایت ها کشف نمودند به آنهاHLA[6] نیز گفته می شود. همچنین این مولکول ها در موش ها H2 نامیده می شود وMHC در موش ها بعنوان جایگاه جنی کشف شد که محصول آن موجب رد پیوند حاد در موش های درون زاد[7] می گردید. از این جهت جن هایی را که مسئول پذیرش، یا رد بافت پیوندی بعنوان خودی یا بیگانه بودند بنام جنهای سازگار نسجی(MHC) نامیدند.

دو دانشمند، به نامهای جان دوسه و جان وان رود نشان دادند که در سرم افرادی که بافت پیوندی را رد می کنند و یا دچار ناسازگاری پس از انتقال خون می شوند علیه بافت پیوندی و آنتی جن های اریتروسایتی آنتی بادی تولید می شود. آنها این آنتی بادی ها را آلو آنتی بادی و سرمی را که حاوی این آنتی بادی بود آلو آنتی سرم نامیدند.

از لحاظ جایگاه جنی، جنهای مربوط به MHC روی کروموزوم شماره شش 6 انسانی وکروموزوم هفده 17 موشی موجود می باشند.

همانطور که پیش تر گفته شد؛ مولکول های MHC دارای سه نوع می باشند: شامل نوع I, II, III

:MHCI

گلایکوپروتئینی متشکل از یک زنجیره آلفاα و یک زنجیره بتا دو میکروگلبولین (β2-microglobulin)، که جن آن روی کرموزوم 15 قرار دارد، می باشد.MHCI روی تمام سلول های هسته دار بدن یافت می شود (به استثنای دو مورد) ؛ 1) سلول های تروفوبلاست جنین حاوی هسته بوده ولی مولکول MHCIرا بیان نمی کنند. ولی امروزه

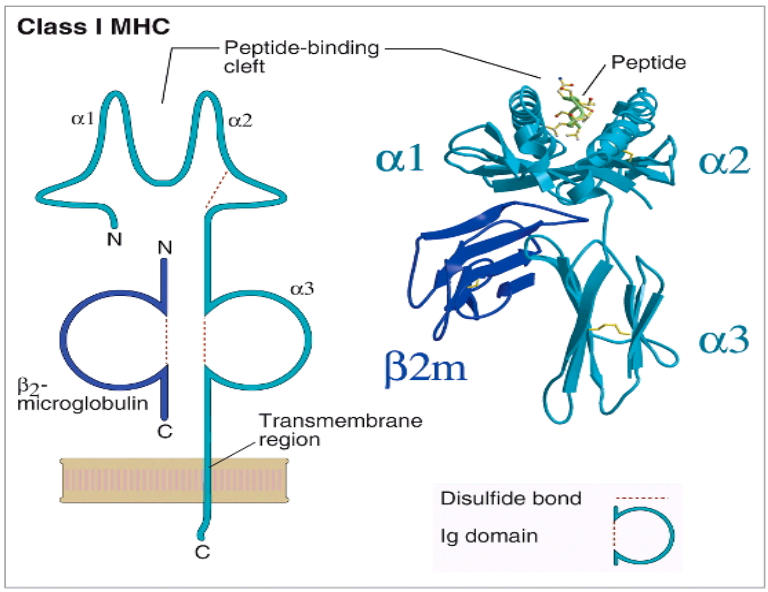
[1] Major histocompatibility complex
[2] Antigen presenting Cells
[3] T-Cell Receptor
[4] Cytotoxic T-Lymphocyte
[5] T-helper
[6] Human Leukocyte Antigen
[7] Inbred

مشخص شده است که این سلولها نوعی مولکول MHC را تحت عنوان(HLA-G,E,F) بیان می کنند که مهار NKC[1] را بدنبال دارد.

2) سلول های پلاتلت[2]، حاوی هسته نبوده ولی مولکول های MHCI رابیان می کنند. و دلیل آن این است که اجداد آنها(مگاکاریوسیت) دارای هسته بودند.

MHCI عرضه کننده اصلی آنتی جن های درون سلولی به سلول های +CD8 می باشد.

همان طور که گفته شد از لحاظ ساختمانی MHCI دارای دو زنجیره1) آلفاα و 2) بتا دو میکروگلبولین می باشد؛ که زنجیره آلفا دارای سه دومن خارج سلولی بنام های α1، α2 و α3 ، یک قسمت داخل غشاء پلاسمایی و یک دم داخل سایتوپلاسمی می باشد. زنجیره بتا دو میکروگلبولین در خارج سلول واقع شده وبه ناحیه α3 متصل می شود. دومن های α1 وα2 درمولکول MHCI پلی مورف بوده و پپتید های آنتی جن عرضه شده در بین این دو ناحیه قرار می گیرد، منتهی این ناحیه مثل محل عرضه آنتی جنMHCII بزرگ و باز نبوده بلکه بسته و کوچک می باشد و حداکثر آمینو اسیدهایی که از پپتید عرضه شده در این ناحیه قرار گرفته میتوانند، 8-10عدد باشد. (شکل1-3)



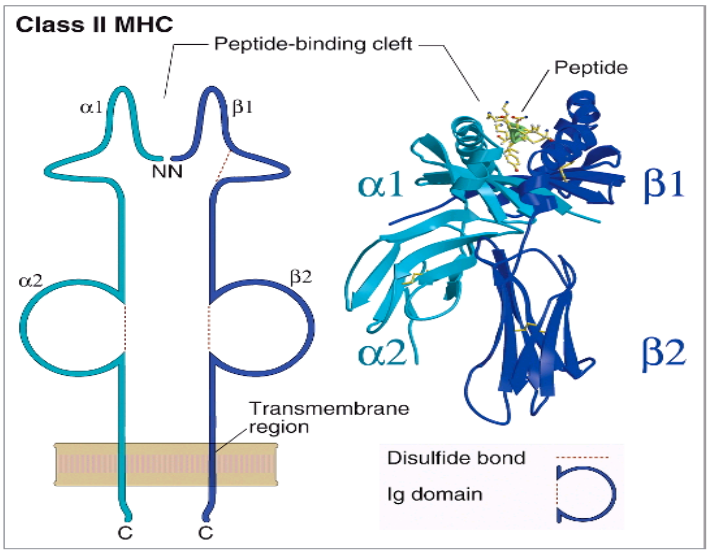
شکل1-3: ساختارMHCI و محل قرار گیری آنتی ژن عرضه شده در ناحیه پلی مورفα1 و α2

دو زنجیره آلفا و بتا دو میکروگلبولین توسط پیوند های غیر کوالان به هم متصل می باشند و دومنα3 در زنجیره آلفا به CD8 اتصال می یابد. بطور کلی سه نوع اصلی از مولکول MHCI وجود دارد؛ بنام های HLA-A، HLA-B و HLA-C و از طرفی چون جنهای این نوع HLA ها به صورت هم غالب[3] به ارث می رسند هر فرد شش نوع HLA کلاس یک را از والدین خود به ارث می برد.(سه عدد از مادر وسه عدد از پدر).

[1]Natural Killer Cells
[2]Platelet
[3]Codominant

:MHCII

مولکول MHCII برخلاف MHCI روی همه سلول ها دیده نمی شود. بلکه بیشتر در سطح سلول های ایمنی، شامل ماکروفاژ، B-Cellها و سلول های دندریتیک دیده می شود. و متشکل از دو زنجیرهα وβ می باشد که زنجیره آلفا دارای دو دومن خارج سلولی بنام $\alpha1$ و $\alpha2$ ، یک قسمت داخل غشائی و یک دم سایتوپلاسمی می باشد. همچنین زنجیره بتا نیز دارای دو دومن خارج سلولی بنام $\beta1$ و $\beta2$ ، یک قسمت داخل غشائی و یک دم سایتوپلاسمی می باشد. دو زنجیره α وβ توسط پیوند های غیر کوالان به همدیگر متصل می باشند. در مولکول MHCII انتهای آمینی $\alpha1$ و$\beta1$ پلی مورف بوده و ناحیه اتصال آمینو اسید های پپتید عرضه شده را تشکیل می دهند، این ناحیه بر خلاف نوع MHCI باز تر بوده و قادر است 10تا 30 آمینو اسید را در خود جای دهد. مولکول MHCII پپتیدها را به سلول های CD4+ عرضه می کند بطوریکه ناحیه $\beta2$ به مولکول CD4 متصل شده و سلول های CD4+ با این اتصال فعال شده و مسیر های سیگنالینگ داخل سلولی آغاز می شوند(شکل2-3). مولکول MHCII دارای چهار نوع به نام های HLA-DP، HLA-DM، HLA-DQ و HLA-DR می باشد.



شکل2-3: ساختار مولکولMHCII و محل قرار گیری پپتید عرضه شده بین دو ناحیه پلی مورف $\alpha1$ و$\beta1$

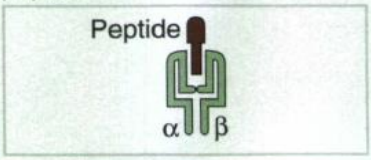
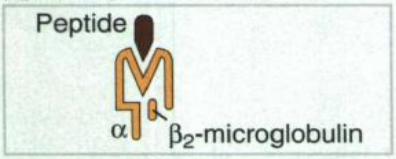
:MHCIII

همانطور که پیش تر گفته شد MHCIII ساختار مولکولی جهت عرضه آنتی جن ندارد، و مثل دو نوع دیگر در عرضه آنتی جن نقش خاص ندارد. ولی جنهای مربوط به آن در ناحیه جنهای MHCII واقع شده و بیشتر شامل موارد ذیل می باشد که کاربرد آنها در فصل های مربوطه بیشتر توضیح داده خواهد شد: C4a ، C4b، TNF، LBT و HSP.

مقایسه MHCI و MHCII از لحاظ ساختمان و عملکرد:

1) MHCI پپتیدها را به سلول های CD8+(سایتوتوکسیک T سل) ولی MHCII به سلول های CD4+ (T کمک کننده) عرضه می کند.

2) MHCI دارای زنجیره آلفاα و بتا دو میکروگلبولین است در حالی که MHCII دارای زنجیره های α وβ می باشد.
3) محل عرضه آنتی جن در MHCI در ناحیه α1 و α2 و در MHCII در ناحیه α1 وβ1 می باشد.
4) در MHCI ، α3 به CD8 متصل میشود در حالی که در MHCII ، β2 به CD4 متصل می شود.
5) محل عرضه آنتی جن در MHCI کوچک بوده و فقط پپتید هایی با اندازه 6تا 10 امینواسید را عرضه می کند ولی MHCII دارای محل عرضه آنتی جن بزرگتر بوده و توانای عرضه پپتید هایی با اندازه 30 امینو اسید را نیز دارد.
6) MHCI در سطح همه سلول های هسته دار دیده می شود ولی MHCII توسط سلول های صلاحیت دار ایمنی مثل لفوسایتB، ماکروفاژ و دندرایتیک سل ها بیان می شود.

Feature	Class II MHC Pathway	Class I MHC pathway
Composition of stable peptide-MHC complex	Polymorphic α and β chains, peptide 	Polymorphic α chain, β_2-microglobulin, peptide 
Types of APCs	Dendritic cells, mononuclear phagocytes, B lymphocytes; endothelial cells, thymic epithelium	All nucleated cells
Responsive T cells	$CD4^+$ T cells	$CD8^+$ T cells
Source of protein antigens	Endosomal/lysosomal proteins (mostly internalized from extracellular environment)	Cytosolic proteins (mostly synthesized in the cell; may enter cytosol from phagosomes)
Enzymes responsible for peptide generation	Endosomal and lysosomal proteases (e.g., cathepsins)	Cytosolic proteasome
Site of peptide loading of MHC	Specialized vesicular compartment	Endoplasmic reticulum
Molecules involved in transport of peptides and loading of MHC molecules	Chaperones in ER; invariant chain in ER, Golgi and MIIC/CIIV; DM	Chaperones, TAP in ER

Abbreviations: APC, antigen-presenting cell; CIIV, class II vesicle; ER, endoplasmic reticulum; MHC, major histocompatibility complex; MIIC, MHC class II compartment; TAP, transporter associated with antigen processing

شکل3-3: مقایسه MHCI و MHCII از لحاظ ساختمان و عملکرد.

مراحل ساخت MHCI و عرضه آنتی جن توسط آن:

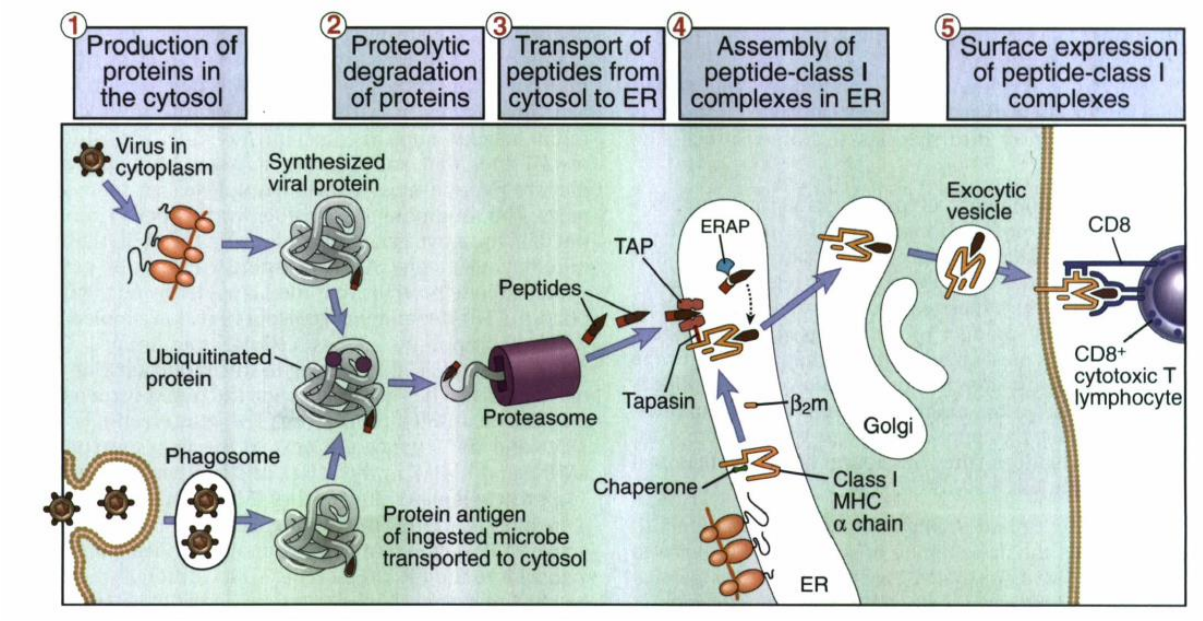
1) آنتی جن های وایروسی در داخل سایتوزول ساخته شده و یا این که بعضی از آنتی جن ها پس از ساخته شدن وارد سایتوزول می شوند.

2) تخریب پروتئین های سایتوزولی توسط کمپلکس پروتئازوم: در این مرحله پروتئین پاتوجن ابتدا توسط عواملی بنام یوبیکوئتینیش، یوبیکوئتینه شده (بیشتر روی آمینواسید لایزین) سپس این پروتئین توسط کمپلکس پروتئازوم که دو جزء اصلی بنام LMP-2 و LMP-7 دارد شناسایی شده و تخریب می شود.

3) انتقال پپتید های ایجاد شده از سایتوزول به شبکه اندوپلاسمی : در سطح شبکه اندوپلاسمی پروتئین هایی وجود دارد بنام TAP[1] ، که وظیفه انتقال پپتید های ایجاد شده حاصل از فعالیت کمپلکس پروتئازوم را بداخل شبکه اندوپلاسمی بر عهده دارد. (جنهای TAP از لحاظ موقعیت نزدیک جن های LMP-2 و LMP-7 می باشد و تحت تاثیر IFNγ افزایش می یابد).

4) جمع آوری مجموعه پپتید –MHCI در داخل شبکه اندوپلاسمی: در این مرحله زنجیره های آلفاα و بتا دو میکروگلبولین در ER ساخته شده و توسط مولکول های چاپرونی مثل کالنکسین[2]و کال رتیکولن[3]محافظت می شود و پس از آن این پپتید ها کنار یکدیگر قرار گرفته و ساختمان MHCI را ساخته که جهت این کار فعالیت انزایمی بنام تاپاسین نیز ضروری است.

5) پس از کامل شدن ساختمان MHCI پپتید موجود در ER نیز در ناحیه عرضه آنتی جنMHCI قرار گرفته و کمپلکس حاصل به دستگاه گلجی رفته و بعد از آن توسط ویزیکول به سطح سلول هدایت می شود.



شکل 4-3: مراحل ساخت MHCI و عرضه آنتی جن توسط آن

[1]Transporter Associated with Antigen processin(TAP)
[2]Calnexin
[3]Calreticulin

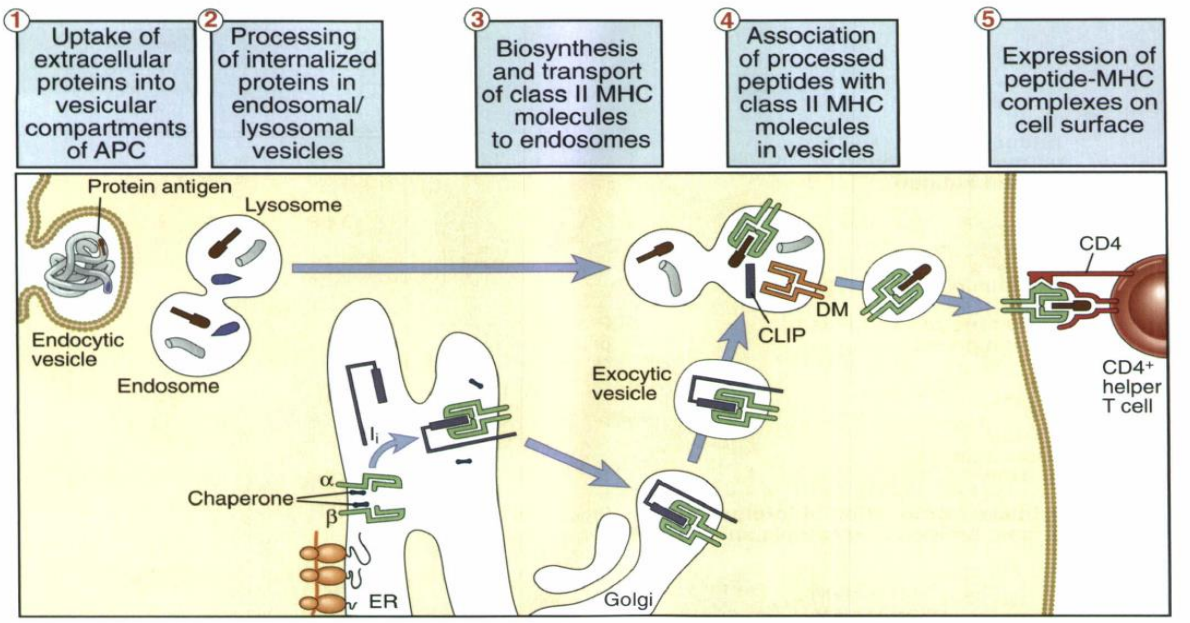
مراحل ساخت MHCII و عرضه آنتی جن توسط آن:

1) فاگوسایت و برداشت آنتی جن بیگانه خارج سلولی توسط APC: آنتی جن بیگانه توسط APC فاگوسایت شده و به اندوزوم منتقل می شود.
2) در داخل سایتوزول، لایزوزوم به اندوزوم متصل شده و محتویات خود را به داخل اندوزوم جهت هضم پروتئین های موجود در آن تخلیه می کند.
3) ساخت مولکول MHCII در ER و انتقال آن به دستگاه گلجی و پس از آن به ویزیکول ترشحی جهت قرار گیری در سطح سلول .

نکته: چون MHCII در ER و در غیاب پروتئین های بیگانه سنتز می شود و درداخل ER تعداد زیادی پروتئین خودی وجود دارد، برای جلوگیری از اتصال پپتید خودی به جایگاه اتصال آنتی جن در MHCII، معمولاً یک پروتئین بنام Ii به جایگاه اتصال آنتی جن قرار گرفته و مانع اتصال آنتی جن های خودی به جایگاه اتصال آنتی جن در MHCII می شود.

نکته: زنجیره Ii یک زنجیره پلی مورف بوده که در ER به محل عرضه آنتی جن بیگانه متصل شده و مانع اتصال پپتید های خودی با این محل می شود.

4) ادغام ویزیکول حاوی پپتید بیگانه و ویزیکول حاوی MHCII: در این مرحله دو ویزیکول حاوی پپتید بیگانه و ویزیکول حاوی MHCII با هم ادغام شده و زنجیره پروتئین Ii توسط کاتپسین تجزیه شده، به ساختاری بنام CLIP[1] تبدیل می شود، آنگاه CLIP توسط مولکولی بنام HLA-DM از محل عرضه آنتی جن جدا شده و بجای آن پپتید بیگانه قرار می گیرد.
5) عرضه کمپلکس MHCII-پپتید در سطح سلول و برقرای ارتباط با CD4+.



شکل5-3: مراحل ساخت MHCII و عرضه آنتی جن توسط آن.

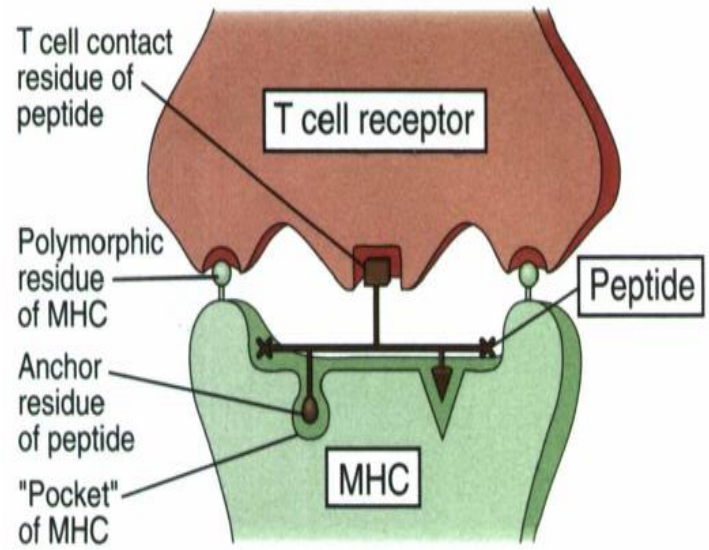
[1] Class II asossiated invariant chain peptide

https://t.me/Khu_medical تلگرام

فصل چهارم

گیرنده های سلول T[1]

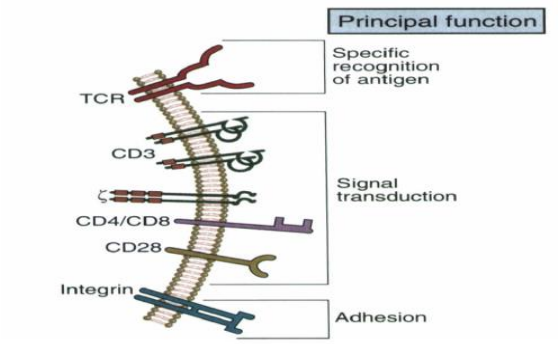
لمفوسیت های T دارای دو ویژگی منحصر به فرد می باشند: 1) شناسایی بنیان های پلی مورف مولکول های MHC خودی که این حالت محدودیت به MHC گفته می شود. 2) شناسایی نقاط اختصاصی آنتی جن عرضه شده پپتیدی توسط مولکول های MHC نوع یک و دو(شکل1-4) . کار شناسایی نقاط خاص آنتی جن عرضه شده برای لمفوسیت ها به عهده مولکول های خاصی بنام TCR می باشد که که این کار در کنار شناسایی هم زمان مولکول های MHC خودی صورت می گیرد.



شکل 1-4: TCR انتی جن های پپتیدی را در کنار انتی جن های پلی مورف MHC خودی شناسایی می کند.

پس از شناسایی آنتی جن توسط TCR برای فعال شدن کامل T-Cell نیاز به تعدادی مولکول های کمکی در کنار TCR می باشد که شامل CD3، زنجیره ζ(زتا) ، CD28، اینتگرین و CD4/CD8 بوده و به صورت غیر کوالان به TCR متصل می باشند. مولکول های کمکی به این دلیل در کنار TCR وجود دارند که بخش سیتوپلاسمی TCR کوچک بوده و نمی تواند انتقال سیگنال کند بنابراین مولکول های کمکی متصل به TCR ، باعث انتقال سیگنال می شوند (شکل 2-4). از بین عوامل مذکور TCR در شناسایی آنتی جن، CD3، زنجیره ζ(زتا) ، CD28 و CD4/CD8 در انتقال پیام، و اینتگرین در چسبندگی سلول نقش دارند.

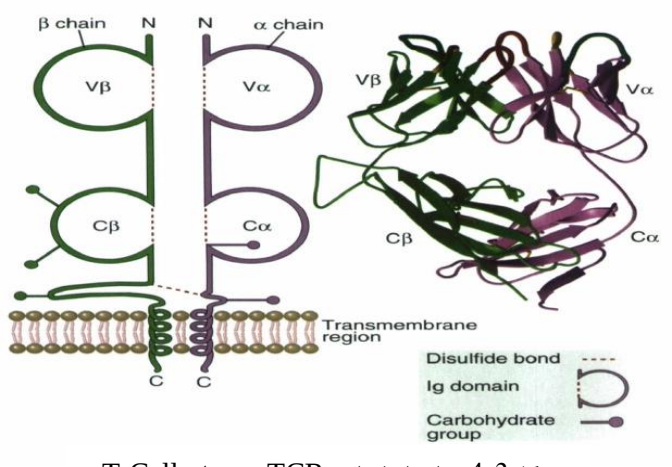
[1] T-Cell Receptor(TCR)



شکل 2-4: در فعال شدن T-Cell سه عامل نقش دارند که در تصویر نشان داده شده است: شناسایی انتی ژن، انتقال پیام و چسبندگی.

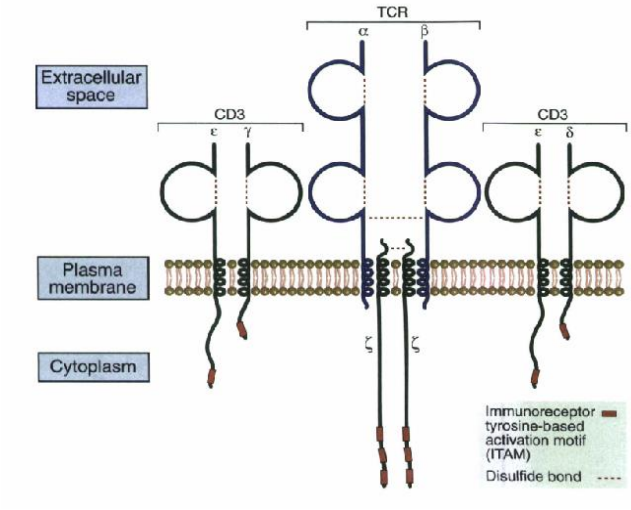
TCR در سال 1980 همزمان با شناسایی کمپلکس MHC- پپتید شناسایی شد که دارای دو زنجیره بوده و مانند مولکول ایمنوگلوبین دارای نواحی متغیر و ثابت می باشد. TCR دارای دو نوع می باشد: 1) نوعی که دارای زنجیره α وβ می باشد. 2) نوعی که دارای زنجیرهγ گاما و δ دلتا می باشد. TCRسلول های +CD4 و +CD8 از نوع α وβ است. همان طور که پیش تر گفته شد ساختمان TCR شبیه ایمنوگلوبین ها بوده و دارای نواحی متغییرV و نواحی ثابت C هستند. نواحی V در زنجیره α وβ سلول هایT از توالی اسید های آمینه کوتاهی تشکیل شده که در هر گیرنده سلول T متفاوت از بقیه می باشد این نواحی را تحت عنوان نواحی بسیار متغییر یا نواحی تعیین مکملCDR[1] یاد می کنند و معمولا سه عدد می باشند. زنجیره بتا دارای یک CDR دیگر بنام CDR4 می باشد که وظیفه آن شناسایی فرآورده های خاص از آنتی جن بنام سوپر آنتی جن می باشد. در TCR نواحی ثابتC دارای ناحیه کوتاهی بنام لولا(چپراس) می باشد که غنی از امینو اسید سیستئین است و موجب ایجاد پیوند های دی سولفیدی و اتصال دو زنجیره به هم می شود. همچنین ناحی C دارای یک بخش درون غشائی هست که در زنجیره آلفا حاوی لایزین و در زنجیره بتا حاوی لایزین و آرجنین است این دو اسید آمینه دارای بار مثبت بوده و با بار منفی زنجیره های CD3و زنجیره ζ(زتا) که بدلیل امینو اسید آسپارتات می باشد، ارتباط برقرار می کنند. مولکول های TCR و ایمنوگلوبین از لحاظ ساختاری شباهت زیادی به هم دارند، منتهی چند تفاوت بین آنها دیده می شود مثلاً TCR پس از فعال شدن، 1) فرم ترشحی نمی دهد. 2) تغییر ایزوتایپ نمی دهد. 3) جهش های سوماتیک نمی دهد(جدول 1-4).

[1] Complementarity determinant regions



شکل3-4: ساختار فضایی TCR در سطح T-Cell

در ناحیه سیتوپلاسمی CD3و زنجیره ζ(زتا) توالی وجود دارد بنام ITAM[1] که غنی از آمینواسید تیروزین است و با اتصال آنتی جن به TCR این ناحیه توسط فعالیت فسفریلیشن موجود در ناحیه LCK موجود در CD چهار یا هشت فسفریله شده و باعث ایجاد پیام های سیگنالینگ در داخل سلول های +CD4و +CD8 و فعال شدن آنها می شود.



شکل 4-4: مولکول TCR و مولکول های کمکی CD3 و ζ که در انتقال پیام شرکت می کنند

[1] Immunoreceptor tyrosine base activation motif

	T cell receptor (TCR)	Immunoglobulin (Ig)
Components	α and β chains	Heavy and light chains
Number of Ig domains	One V domain and one C domain in each chain	Heavy chain; one V domain, three or four C domains Light chain; one V domain and one C domain
Number of CDRs	Three in each chain for antigen binding; fourth hypervariable region in β chain (of unknown function)	Three in each chain
Associated signaling molecules	CD3 and ζ	Igα and Igβ
Affinity for antigen (K_d)	10^{-5}–10^{-7} M	10^{-7}–10^{-11} M (secreted Ig)
Changes after cellular activation		
Production of secreted form	No	Yes
Isotype switching	No	Yes
Somatic mutations	No	Yes

Abbreviations: C, constant; CDR, complementarity-determining region; K_d, dissociation constant; V, variable.

جدول1-4: شباهت ها و تفاوت ها بین ایمنوگلوبین و TCR از لحاظ ساختمان و عملکرد.

بلوغ لمفوسیت و ایجاد تنوع در گیرند ه های آنتی جنی

چون ذخیره جنتیکی سلول های لمفوسیت محدود می باشد و لمفوسیت ها قادرند به میلیارد ها آنتی جن، پاسخ مناسب ایجاد نمایند باید مکانیسمی وجود داشته باشد که بتواند این تنوع را در ناحیه متصل شونده یک آنتی بادی یا TCR به آنتی جن بوجود آورد. در گیرنده های سیستم ایمنی بجای جن، قطعات جنی وجود دارد که کنار هم قرار گرفتن این قطعات جنی موجب می شود تا جنی کار آمد، معادل جن معمولی ایجاد شود.

سازماندهی جنتیکی مولکول های TCR تقریباً همانند Ig بوده و جن مربوط به زنجیره های β و γ بر روی کرموزوم شماره 7 و α وδ بر روی کرموزوم 14 قرار دارد قطعات جنی زنجیره هایδ (J.D.H) در داخل جن α قرار دارد (β و δ مثل زنجیره سنگین ایمنوگلوبین ها دارای قطعات جنی D هستند).

برای ایجاد جنهای کار آمد و ایجاد گیرنده های آنتی جنی متنوع با استفاده از قطعات جنی، فرآیندی به نام نوترکیبی سوماتیک[1] و باز آرایی[2](ترتیب مجدد) دخیل هستند. در این نوع نوترکیبی، از طریق اتصال تصادفی قطعات جنی و حذف DNA بینابینی ،باز آرایی صورت می گیرد . روند نوترکیبی سوماتیک به قرار ذیل است(شکل5-4):

1) آنزیمی هایی بنام Rag1 و Rag2 نقاط خاصی به نام RSS[1] را در سمت 5پریم قطعه V و 3پریم قطعه J و در صورتی که زنجیره از نوع β ، δ و یا زنجیره سنگین باشد در هر دوطرف ناحیه D شناسایی می کند.

[1] Somatic recombination
[2] Rearrangement

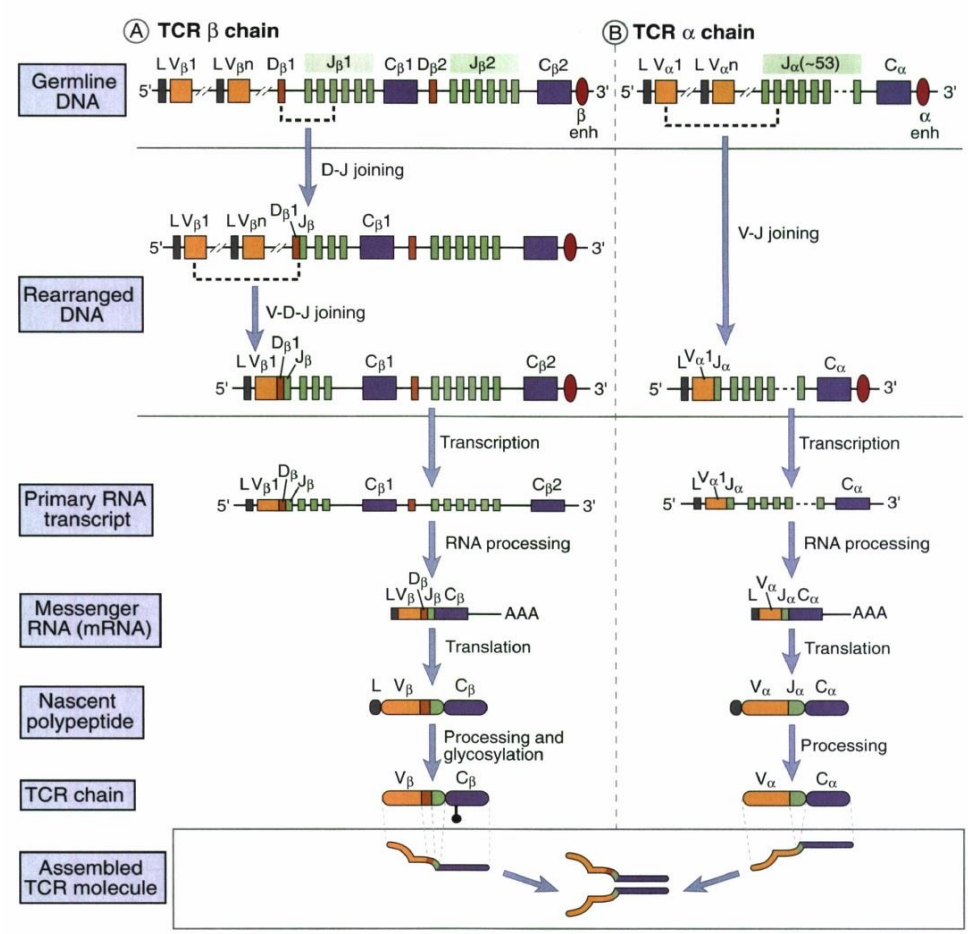
نکته : توالی RSS مشتمل بر یک بخش شدیداً حفاظت شده هفت نکلئوتایدی موسوم به هپتامر هستند که در مجاورت توالی کد کننده قرار دارند و بعد از هپتامر یک توالی فاصله انداز وجود دارد که طول آن دقیقاً 12 یا 23 نوکلئوتاید غیر محفوظ است و پس از آن بخش شدیداً حفاظت شده 9 نوکلئوتایدی به نام نانومر واقع است. توالی 12 و 23 نوکلئوتایدی طوری قرار دارند که تقریباً حدود یک یا دو دور از مارپیچ DNA را در بر می گیرد و باعث می شود که توالی هپتامری و نانومری در مجاورت آنزیم های ریکامبیناز(Rag1 وRag2) قرار گیرد.

نکته: نوترکیبی فقط بین دو قطعه ای روی می دهد که یکی از آنها دارای فاصله انداز 12 و دیگری فاصله انداز 23 نوکلئوتایدی باشد که به این عمل قانون 23/12 گفته می شود.

2) آنزیم آرتمیس[2] شکل سنجاق سری که در اثر اتصالات قطعات بوجود می آید را در هم شکسته و این قطعات شکسته توسط آنزیم لیگاز به هم متصل می شوند(آرتمیس خود توسط آنزیم دیگر بنام DNA-PK فعال می شود).

3) اتصال متفاوت قطعات به هم باعث ایجاد نوترکیبی می شود و همچنین در محل برش آرتمیس ، یک توالی از نوکلئوتایدها به صورت پالیندرومیک (وارونه خوانی) اضافه شده که به آنها نوکلئوتاید های پالیندرومیک(P) میگویند و از طرفی دیگر، آنزیمی بنام TdT ، به صورت تصادفی باعث اضافه شدن نوکلئوتید ها در محل برش می شود که به آنها نوکلئوتاید های N می گویند.

[1] Recombinant signal sequence
[2] Artemis



شکل5-4: نوترکیبی و باز آرایی و تشکیل زنجیره ها βوα در TCR و اتصال آنها به یکدیگر

چون بلوغ و تنوع گیرنده سلول T شبیه مولکول آنتی بادی است در همین جا سازماندهی گیرنده ای آنتی جن در لمفوسیت های B(آنتی بادی ها) توضیح داده می شود.

سازماندهی جنتیکی زنجیره سبک و سنگین آنتی بادی:

زنجیره سبک کاپا روی کروموزوم شماره 2 و لامبدا روی کروموزوم شماره22 و زنجیره سنگین روی کروموزوم 14 انسانی موقعیت دارد .

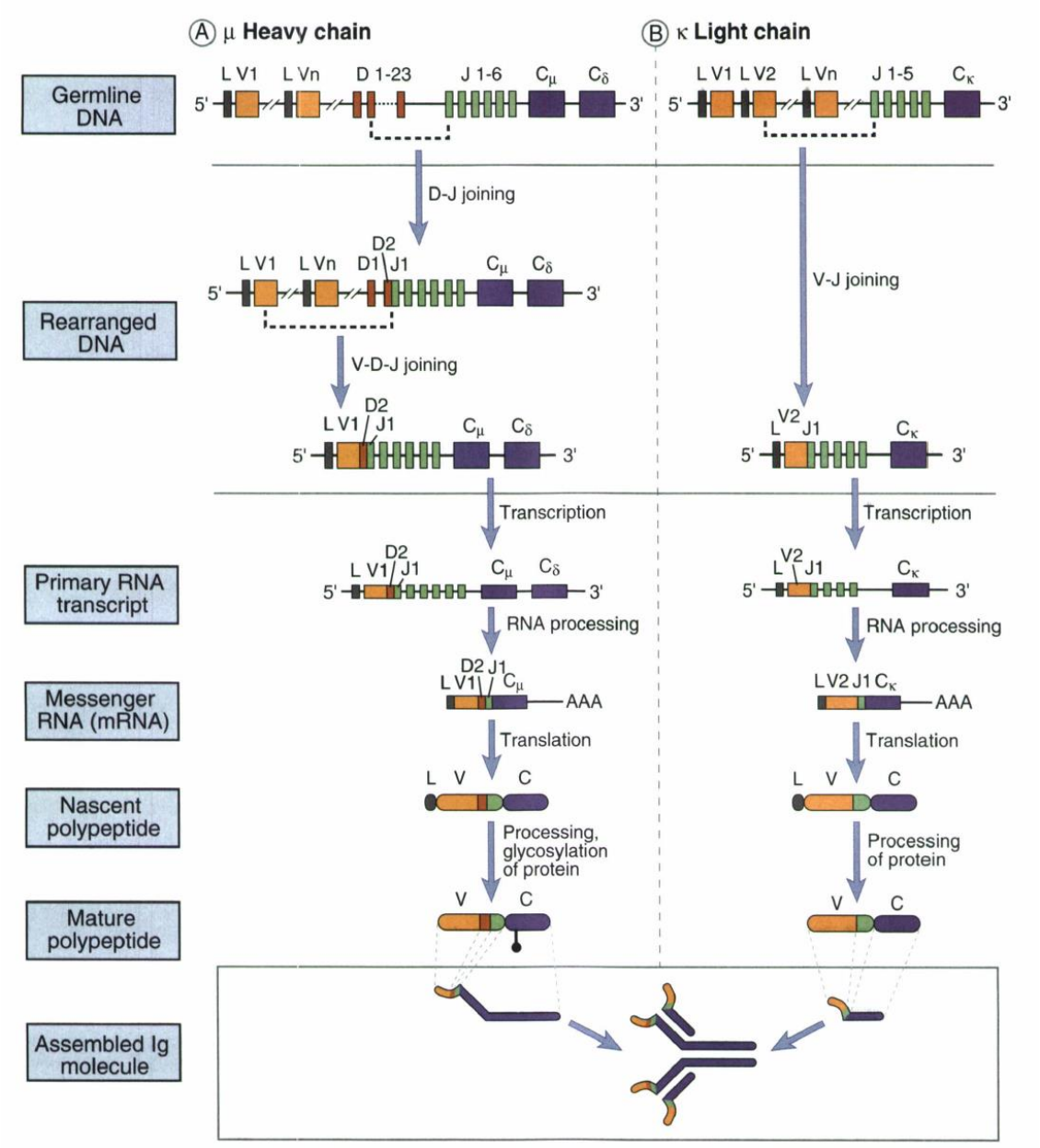
مراحل نوترکیبی بدین صورت است(شکل6-4):

مثل TCR در آنتی بادی ها نیز نواحی RSS توسط Rag1 و Rag2 شناسایی شده و برش داده می شود

آنگاه در محل های برش نوکلئوتید های P یا N اضافه شده و یا بعضی از نوکلئوتاید ها از محل برش حذف می شوند .

نکته: زنجیره سنگین مثل زنجیره β ، δ در TCR دارای قطعه D می باشد که در دو طرف آن نواحی RSS مشاهده می شود.

نکته : مثل نوترکیبی TCR در فرایند نوترکیبی زنجیره های آنتی بادی آنزیم های Rag1، Rag2، TdT و DNA-PK و لیگاز دخالت دارند.



شکل6-4: نوترکیبی و باز آرایی زنجیره سبک و سنگین در مولکول آنتی بادی

گیرنده نوع γδ در سلولهای T:

این گیرنده در تعداد کمی از سلول های T که نوع αβ را ندارند دیده می شود. کمتر از 5٪ سلول های T از نوع γδ بوده و بیشتر در بافت های اپیتلیومی (دهان، تخمدان و واجن) مشاهده می شوند . این گیرنده ها محدود به MHC نبوده و مولکول های غیر پروتئینی مثل لیپوگلیکان های مشتق از باکتری را در حضور CD1 شناسایی می کنند و تنوع محدود این گیرنده ها این فرضیه را مطرح می کند که احتمالاً لیگاند های این گیرنده ها غیر متغیر و ثابت باشد.

شناسایی آنتی جن توسط لمفوسیت T:

وقتی یک آنتی جن وارد پوست شود و یا میکروبی فرد را آلوده نماید، این آنتی جن توسط APC ها بلعیده شده و پس از بلعیدن آنتی جن، APC ها در سطح خود CCR7 را بروز می دهند که لیگاند آن در غدد لمفاوی وجود دارد به این ترتیب APC ها محل ورود آنتی جن (زخم) را ترک نموده و وارد غدد لمفاوی شده و آنتی جن بلعیده شده را در حضور MHCII به سلول های CD4+ عرضه می کنند پس از آن سلول های CD4+ با شناسایی آنتی جن و به کمک مولکول های سطحی کمکی خود(CD3،ζ، CD28) فعال شده و باعث می شود که APC ها نوعی سایتوکین بنام IL12[1] را ترشح کنند که باعث تمایز سلول های T می شود. سلول های T کمکی پس از تمایز به TH1(بیشتر در ایمنی سلولی) و TH2(بیشتر در ایمنی همورال) تبدیل می گردند.

فعال سازی ماکروفاژ و B-Cell:

سلول Tکمکی(Th) پس از فعال شدن نوعی لیگاند بنام CD40L را در سطح خود بروز می دهد که گیرنده CD40L بنام CD40 در سطح B-Cell و ماکروفاژ مشاهده می شود و CD40 به CD40L متصل شده و پس از آن B-Cell برای تولید آنتی بادی و ماکروفاژ جهت از بین بردن میکروب تحریک می شوند. همچنین Th باعث تولید IFNγ شده که یک محرک قوی جهت فعالیت ماکروفاژ ها می باشد.از طرفی اگر سلول های CD8+ که آنتی جن های داخل سلولی را شناسایی می کنند فعال گردند در سطح خود CD95L(fas Ligand) را بیان نموده که اتصال این لیگاند مکانیسم آپپتوز را در سلول هدف راه اندازی می کند.

اعمال ماکروفاژ فعال شده:

1) در پاسخ به پیام های CD40 و IFNγ ماکروفاژها فعال شده و توسط مکانیسم های ذیل در حذف مایکروارگانیسم کمک می کنند:
2) تخریب آنتی جن بلعیده شده توسط واسطه های فعال اکسیجن، نیتریک اکساید و آنزیم های لیزوزومی .
3) تحریک التهاب با تولید سایتوکین هایی مثل TNF، IL1 و فراخوانی نوتروفیل ها به محل التهاب برای حذف مایکروارگانیسم.
4) برداشت و حذف بافتهای مرده تا بعد از کنترل عفونت، ترمیم بافت با سهولت بیشتری انجام گیرد .
5) افزایش بیان MHCII و مولکول های کمک تحریکی و تولید سایتوکین هایی مثل IL12 که تکثر و تمایز لمفوسیت های T را بدنبال دارد.

[1] Interleukin 12

تلگرام https://t.me/Khu_medical

فصل پنجم

سیستم کمپلمان[1]

تاریخچه کشف سیستم کمپلمان به سال های 1890 و مطالعات جولز بوردت[2] در انستیتوت پاستور پاریس برمی گردد. وی مشاهده نمود که اگر سرم خون گوسفندی را که حاوی آنتی بادی ضد ویبریو کلرا است با باکتری ویبریو کلرا مجاور کند باعث تخریب باکتری خواهد شد ولی اگر این سرم را به مدت 30دقیقه در حرارت 56درجه سآنتی گراد قراردهند دیگر این سرم قادر نخواهد بود باکتری ویبریوکلرا را لیز(تخریب) نماید. جولز بوردت یک تجربه دیگر را در ادامه این تحقیقات انجام داد؛ وی مشاهده نمود که اگر سرم حاوی آنتی بادی را که به مدت 30 دقیقه در حرارت 56 درجه قرار داشته ، با سرمی که حاوی آنتی بادی علیه ویبریو کلرا نیست و تازه تهیه شده مخلوط گردد این مخلوط سرم ها قابلیت تخریب باکتری را مجدداً بدست خواهد آورد. وی نتیجه گرفت که علاوه بر آنتی بادی عوامل دیگری نیز باید وجود داشته باشد که در تخریب باکتری به آنتی بادی کمک می کند او نام این عوامل را سیستم کمپلمان نامید.

سیستم کمپلمان شامل بیش از 30 نوع پروتئین غشایی و سرمی می باشد که با روش آبشار مانند فعال شده و باعث بروز پیامدهای بیولوژیک متفاوتی می شود.

نامگذاری پروتئین های کمپلمان:

پروتئین های کمپلمان را به صورت مختلف نام گذاری می کنند. برخی را با یک حرف C که برگرفته از ابتدای کلمه کمپلمان است و یک شماره شامل C1 تا C9 نشان می دهند. حروف C و یک حرف کوچک نشانگر قطعات کمپلمان است مثلاً C3a، C3b، C2a،C2b و... . قطعات کوچکتر با a کوچک و قطعات بزرگ تر با b کوچک نشان داده می شوند . نشان دادن یک خط در بالای قطعه، نشانگر داشتن فعالیت آنزیمی است. برخی از اجزای کمپلمان را بایک حرف انگلیسی و کلمه فاکتور نشان می دهند؛ مثل B Factor یا D Factor. برخی از پروتئین های کمپلمان را با کاری که انجام می دهند، می شناسند. مثل مهار کننده C1 Inh[3] و برخی را به صورت اصطلاحی نام گذاری می کنند مثل Properdin.

سنتز پروتئین های کمپلمان:

پروتئین های کمپلمان عمدتاً توسط هپاتوسیت های کبد ساخته می شوند اما به میزان کمتر توسط ماکروفاژها، منوسیت های خونی و سلول های اپی تلیال دستگاه گوارش و ادراری -تناسلی نیز ساخته می شوند.

فعال شدن سیستم کمپلمان:

سیستم کمپلمان از سه مسیر کلاسیک، آلترناتیو و لکتین فعال می شود.

[1] Complement System
[2] Jules Bordet
[3] C1 Inhibitor

فعال شدن سیستم کمپلمان از مسیرکلاسیک:

فعال کننده های مسیر کلاسیک بر دو نوع می باشند:

a) فعال کننده های ایمونولوجیک و b) فعال کننده های غیرایمونولوجیک.

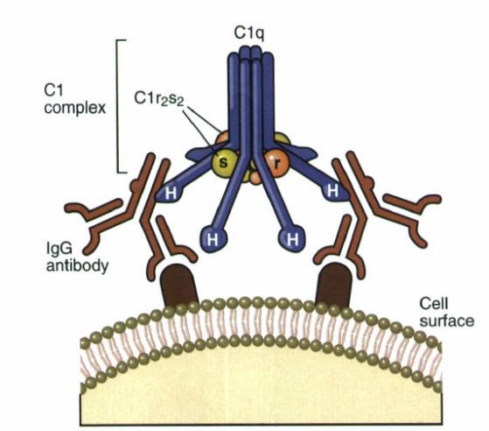
فعال کننده های مسیر کلاسیک شامل کمپلکس آنتی جنو آنتی بادی می باشد .آنتی بادی های کلاس IgM و IgG(IgG1, IgG2, IgG3) قادر به فعال کردن کمپلمان از مسیر کلاسیک می باشند .حداقل دو ملکول آنتی بادی برای فعال شدن مسیر کلاسیک ضرور می باشد.

نکته: مولکول هایی مثل CRP[1] با اتصال به جزء C1 قادر به فعال کردن کمپلمان از مسیر کلاسیک می باشند.

مسیر کلاسیک:

زمانی که کمپلکس آنتی جن -آنتی بادی شکل می گیرد جزء اول کمپلمان یعنی C1 فعال می گردد .مولکول C1 خود از3 بخش C1q، C1r و C1s تشکیل شده است .در این حالت C1q به آنتی بادی متصل می شود .زمانی که اتصال C1q برقرار شد C1r تغییر شکل فضایی داده و فعال می گردد و C1s را فعال می نماید.C1s فعال در ابتدا مولکول C4 را شکسته و C4a و C4b را ایجاد می کند در مرحله بعد مولکول C2 توسط C1s شکسته شده و C2a و C2b را ایجاد می کند.C4b و C2b ایجاد کمپلکس نموده و به صورت C4b2b در می آید که به آن C3 کانورتاز می گویند و قادر به شکستن C3بوده و ایجاد C3a وC3b را می نماید.C3b به کمپلکس C4b2b متصل شده و ایجاد C4b2b3b را می کند که به آن C5 کانورتاز می گویند و روی C5 اثر کرده و ایجاد C5a وC5b می کند.C5b قادر به نزدیک شدن به غشاء می باشد و پس از آن اجزای بعدی شامل C7،C6 ، C8 و پلیمر C9(15تا 25مولکولC9) به آن اضافه می گردد و در غشاء یک حفره ایجاد می کند.

نکته: کمپلکس C5b678(9)n را کمپلکس حمله به غشاء[2] می نامند.



شکل1-5: ساختار C1 و نحوه فعال شدن آن پس از اتصال آنتی بادی به سلول

[1] C-Reactive protein
[2] Membrane attack Complex

فعال شدن مسیر آلترناتیو کمپلمان:

فعال شدن مسیر آلترناتیو بدون دخالت آنتی بادی صورت می گیرد. بدین شکل که C3 تا حدودی به صورت خود بخودی هیدرولیز شده و ایجاد C3a و C3b می کند و در صورتی که دیواره سلولی باکتری، مخمر[1] و یا وایروس وجود داشته باشد به C3b متصل شده وبعداً فاکتورB به آن متصل می گردد آنگاه فاکتورD به این مجموعه اضافه شده و فاکتورB را به دوجزء کوچکتر بنام های Ba وBb تبدیل می کند، Bb که دارای جایگاه فعال آنزیمی است به C3b متصل باقی مانده و کمپلکسC3bBb را ایجاد می نماید.

نکته : مسیر آلترناتیو توسط عواملی مثل LPS[2] باکتری های گرام منفی، تایکوئیک اسید در باکتری های گرام مثبت، دیواره سلولی باکتری ها، بعضی از سلول های توموری و بعضی از پارازیت ها ، سم مار کبری و همچنین کمپلکس های ایمنی آنتی جن و آنتی بادی IgA، IgD و IgE فعال می گردد.

نکته : C3bBb فعالیت آنزیمی داشته و به آن C3 کانورتاز می گویند و روی C3 اثر کرده ایجادC3b و C3a می نماید.

تعدادی C3b ایجاد شده به کمپلکس C3bBb اضافه شده و کمپلکسC3bBb3b را تولید می کنند که به آنC5 کانورتاز گفته می شود.

C3bBb3b روی C5 اثر نموده و ایجادC5a و C5b می کند و در نهایت به C5b مجموعه C6 تا C9 اضافه گردیده و کمپلکس حمله به غشاء ایجاد می گردد (C5b678 (9) n).

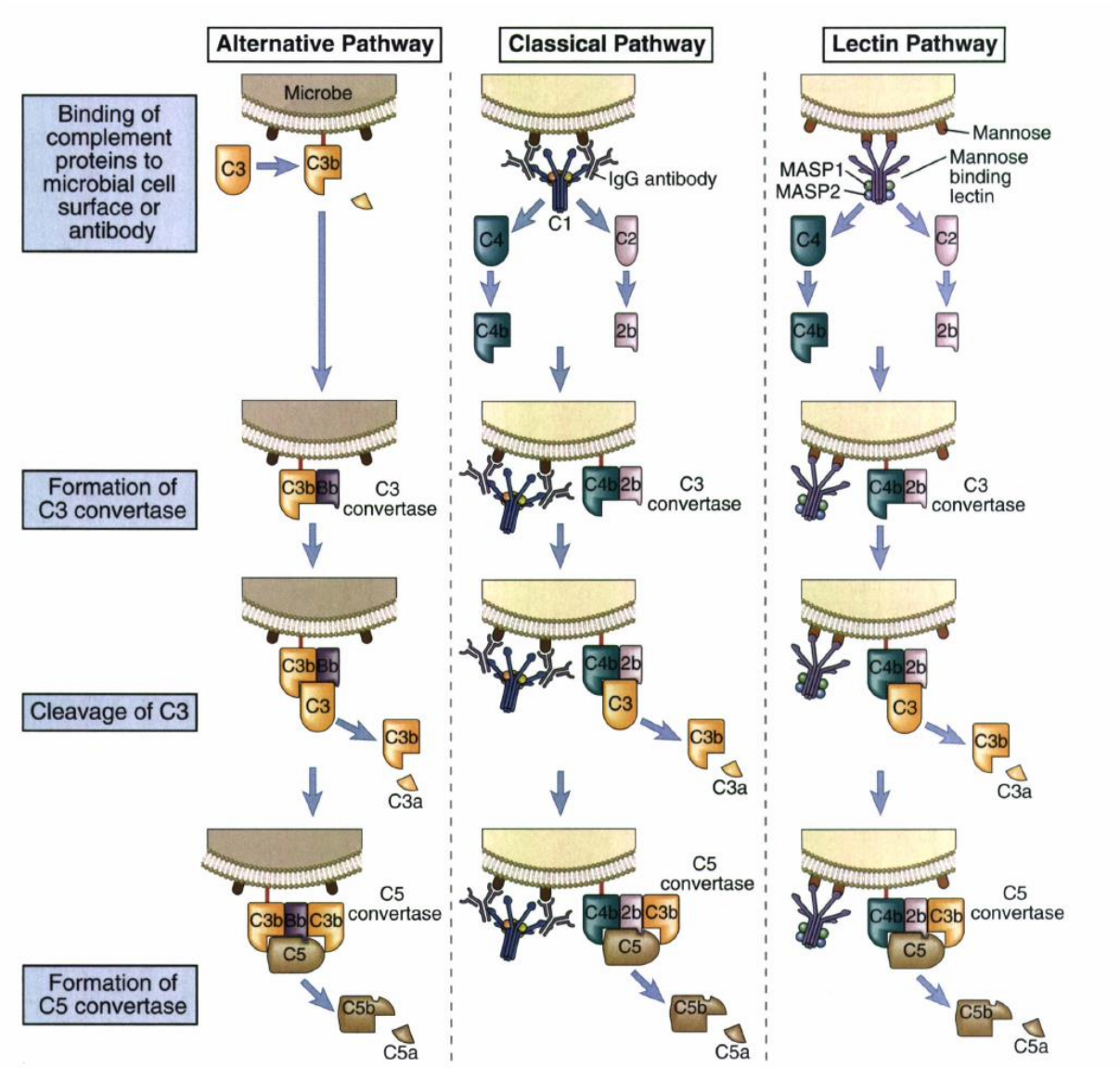
فعال شدن مسیر لکتین کمپلمان:

مسیر لکتین از طریق مولکول هایی مثل MBL[3] و فیکولین صورت می پذیرد. MBL و فیکولین به C1q شباهت داشته ولی در عوض بجای C1s وC1r دارای دو، سرین پروتئاز دیگر بنام های MASP1[4] و MASP2 هستند. با اتصال قند مانوز به MBL ، MASP2 و MASP1 فعال شده و پس از آن C2 و C4 شکسته شده و ایجادC2a، C2b، C4aو C4b می نماید و ادامه مسیر شبیه مسیر کلاسیک بوده که در نهایت کمپلکس حمله به غشاء ایجاد می شود.

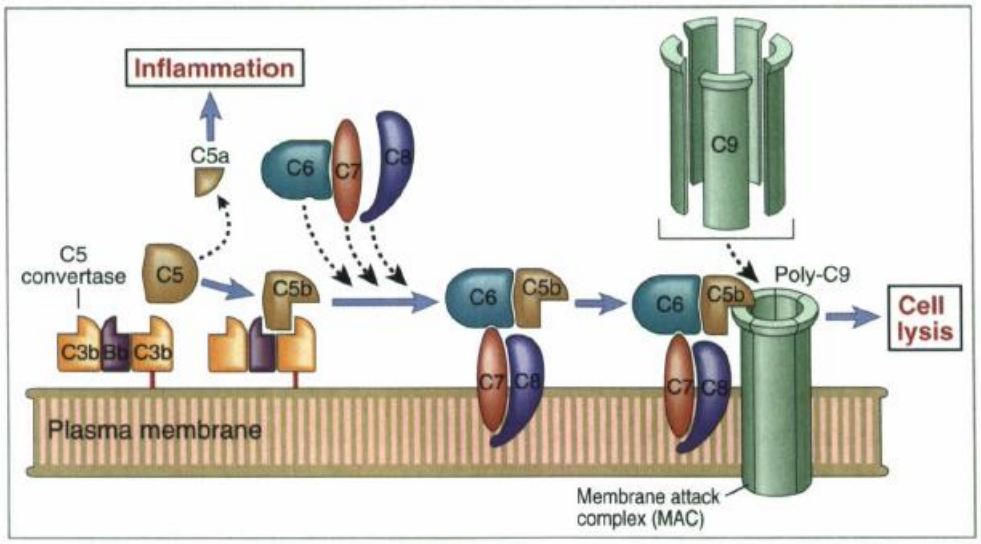
نکته: با وجود اینکه مانوز در سلول های پستانداران وجود دارد ولی چون مانوز توسط اسید سیالیک غشاء پوشیده شده است، نمی تواند به MBL متصل شده و مسیر لکتین را فعال نماید.

---

[1] Yeast
[2] Lipopoly sacaride
[3] Mannose binding lectin
[4] MBL-associated serine protease



شکل2-5: مسیر فعالیت شدن کلاسیک، آلترناتیو و لکتین کمپلمان که نهایتاً هر سه مسیر موجب شکسته شدن C5 و تشکیلC5b شده و C5b با نزدیک شدن به غشاء در تشکیل کمپلکش حمله به غشاء شرکت می کند.



شکل3-5: نزدیک شدن C5b به غشاء و تشکیل کمپلکس حمله به غشاء (MAC) با اضافه شدن C6،C7،C8 و پلی مر C9 به آن.

فعالیت های بیولوجیک کمپلمان:

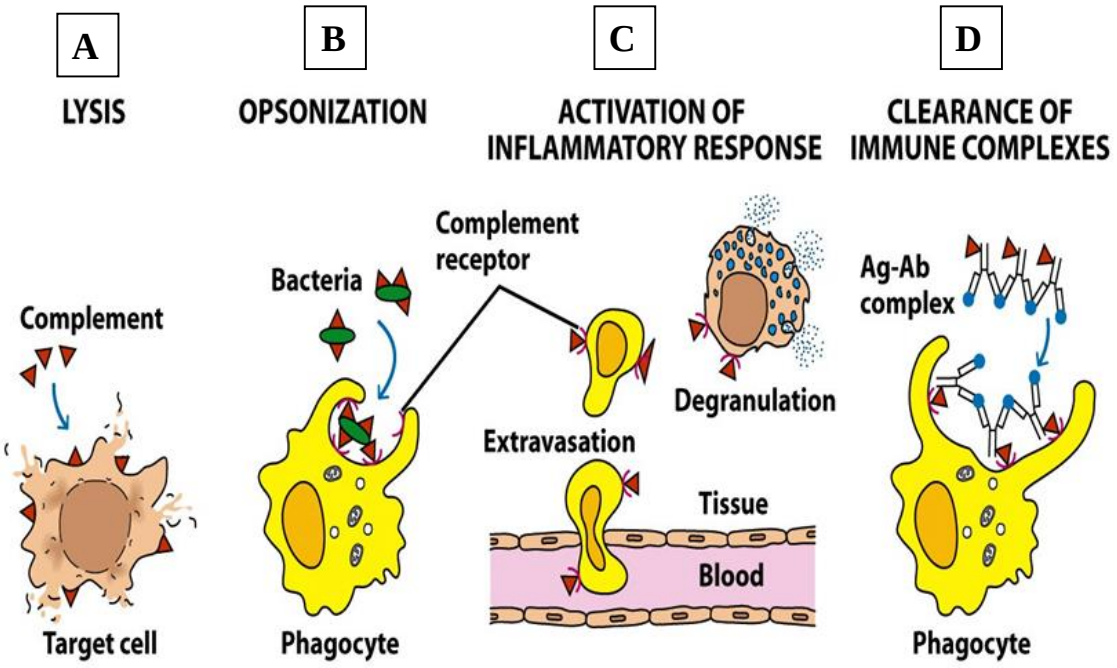
1) تشکیل کمپلکس MAC
2) اپسونیزیشن: مولکول هایی مثل C3d خاصیت اپسونین دارند و ماکروفاژ هم برای آنها گیرنده دارند.
3) شرکت در پدیده التهاب

الف) مولکول های مثل C4a، C5a وC3a که آنافیلاتوکسین نامیده می شوند با اتصال به گیرنده های سطح سلول های ماست سل و بازوفیل موجب تخلیه گرانول های این سلول ها می شوند.

ب) مولکول C5a با اتصال به گیرنده خود در سطح نوتروفیل و ماکروفاژ باعث انفجار تنفسی و فعال شدن این سلول ها می شود.

ج) مولکول هایی مثل C3a و C5a خاصیت کموتاکتیک (جاذب کیماوی) برای سلول های ایمنی دارند.

4) پاکسازی کمپلکس های ایمنی : برداشت و حذف کمپلکس آنتی جن- آنتی بادی از خون ، در اعضایی مثل کبد و طحال.



شکل 4-5: فعالیت های بیولوجیک کمپلمان: شامل A لیز آنتی جن، B کمک به اپسونیزیشن، Cالتهاب و Dکمک به پاک سازی کمپلکس های ایمنی.

تنظیم سیستم کمپلمان:

فعالیت سیستم کمپلمان به شدت تحت تنظیم بوده تا از فعال شدن این سیستم روی سلول های طبیعی میزبان جلوگیری و مدت زمان فعال شدن آنرا روی سلول های بیگانه و میکروبی محدود کند. تنظیم سیستم کمپلمان توسط انواعی از پروتئین های در گردش(فاکتورI، فاکتورH، پروتئین C4B و پروتئین S) و پروتئین های غشائی (CD35،CD46،MCP،DAF و CD59) انجام می گیرد.

مولکول C1Inh[1]: که با اتصال به C1s و C1r ، کمپلمان را مهار می کند یکی از موکول های مهم تنظیمی کمپلمان می باشد. فقدان این مولکول موجب نوعی بیماری بنام آنژیوادم ارثی می شود.

فاکتور I : یک سرین پروتئاز است که به کمک فاکتور H، C4BP، MCP وCR1 باعث شکستن C3b و C4b می شود و به این طریق کمپلمان را مهار می کند.

پروتئین متصل شونده به C4(C4BP)[2]: به C4b می چسبد و جایگزین C2a می شود.

فاکتورH : به C3b چسبیده، جایگزین Bb می شود و کوفاکتور شکست C3b توسط فاکتور I می باشد.

پروتئین کوفاکتور غشاء(MCP[3]): کوفاکتور شکست C3b و C4b توسط فاکتور I می باشد.

[1] C1 Inhibitor
[2] C4 Binding Protein
[3] Membrane cofactor protein

فاکتورتسریع کننده تخریب (DAF[1]): باعث تخریب و شکستن C3 کانورتاز می شود.

CD59: اتصال C9 را مهار کرده و از تشکیل MAC جلوگیری می کند.

پروتئین S: با اتصال به مجموعه های محلولC5b67 مانع اتصال آنها به غشای سلول های نزدیک محل آغاز آبشار کمپلمان می شود.

گیرنده های کمپلمان:

جهت قطعات کمپلمان بخصوص C3 گیرنده در سطح سلول ایمنی وجود دارد که اتصال این قطعات به گیرنده اختصاصی باعث ایجاد فعالیت های مختلف می گردد.

گیرنده کمپلمان نوع 1(CR1[2] یا CD35) : بطور عمده باعث تسهیل فاگوسیتوز ذرات پوشیده شده از C3b وC4b و پاکسازی کمپلکس های ایمنی از گردش خون می شود.

گیرنده کمپلمان نوع 2(CR2 یا CD21) : در سطح لمفوسیت های B، سلول های دندرتیک فولیکولی و بعضی سلول های پوششی وجود داشته و بطور اختصاصی به C3d، C3b و iC3b که محصولات شکست C3b می باشند متصل می شود.

نکته: CR2 همچنین گیرنده وایروسEBV می باشند و در ورود این وایروس به لمفوسیت B دخیل هستند.

گیرنده کمپلمان نوع 3 یا Mac-1(CR3 یا CD11bCD18) : پذیرنده iC3b است و نقش مهمی در فاگوسیتوز ذرات پوشیده شده از iC3d دارد.

گیرنده کمپلمان نوع 4 (CR4 یا CD11cCD18): به iC3b متصل می شود و عملی مشابه CR3 دارد.

بیماری های کمبود کمپلمان:

در انسان کمبود مادرزادی اجزای کمپلمان با بیماری هایی همراه می باشد. برای مثال افراد دچار کمبودC3 نسبت به باکتری ها حساس بوده و بطور مکرر به عفونت های چرکی مبتلا می شوند. بیمارانی که کمبود پروتئین های اولیه سیستم کمپلمان(C1، C2 وC4) را دارند معمولاً مستعد لوپوس اریتماتوز سیستمیک[3] می باشند. بیمارانی که فاقد هریک از پروتئین های مرحله حمله به غشاء(C5 تا C9) می باشند به طور مکرر به عفونت های نایسریایی مبتلا می گردند. در

[1] Decay accelerating factor
[2] Complement receptor
[3] Systemic lupus erythematous

بیماری هموگلوبینوری حمله ای شبانه [1](PNH) ، فقدان CD59(که مانع عمل MAC می شود) دیده می شود و اریتروسیت های این افراد نسبت به افراد طبیعی در برابر کمپلمان حساس بوده و زود تر تخریب می شوند.

1 proximal nutrical hemoglobimoria

https://t.me/Khu_medical تلگرام

فصل ششم

واکنش های ازدیاد حساسیت[1]

واکنش های ازدیاد حساسیت همان واکنش های طبیعی نسبت به آنتی جن هستند که به صورت افزایش یافته یا نامناسب ایجاد می شود و به همین دلیل به آن ها واکنش ازدیاد حساسیت گفته می شود. براساس زمان و مکانیسم ایجاد واکنش، آنها را به 4 نوع تقسیم بندی می کنند که عبارتند از: تیپ 1، تیپ 2، تیپ 3 و تیپ 4.

سه تیپ اول به واسطه آنتی بادی و تیپ چهارم به واسطه سلول هایT ایجاد می گردد .واکنش های ازدیاد حساسیت اغلب برضد آنتی جن های بی ضرر ایجاد شده و پاسخ های ثانویه ایمنی می باشند.

ازدیاد حساسیت تیپ 1:

واکنش های ازدیاد حساسیت تیپ 1 (آنافیلاکسی) فوری ایجاد می شود چرا که چند دقیقه پس از برخورد با آلرجن(آنتی جنی که باعث آلرجی می شود) علائم آن بروز می نماید. در ازدیاد حساسیت تیپ 1 عوامل متعددی از جمله فاکتورهای جنتیکی، محیطی، سن، جنس و نژاد دخالت دارد .در ازدیاد حساسیت تیپ 1 فعال شدن ماست سل ها و بازوفیل ها موجب بروز علائم بیماری می شود.

ماست سل ها و بازوفیل ها به 2 شکل فعال شده و محتویات خود را آزاد می کنند.

1) محرک های ایمونولوجیک؛ در آن اتصال متقاطع IgE توسط آلرجن موجب بروز علائم می گردد.
2) محرک های غیرایمونولوجیک (واکنش های آنافیلاکتوئید)؛ مستقیماً و بدون دخالت آنتی بادی توسط موارد زیر صورت می گرد و ماست سل و بازوفیل محتویات خود را آزاد می کنند.

الف) ترکیبات دارویی مثل کدئین و مورفین.

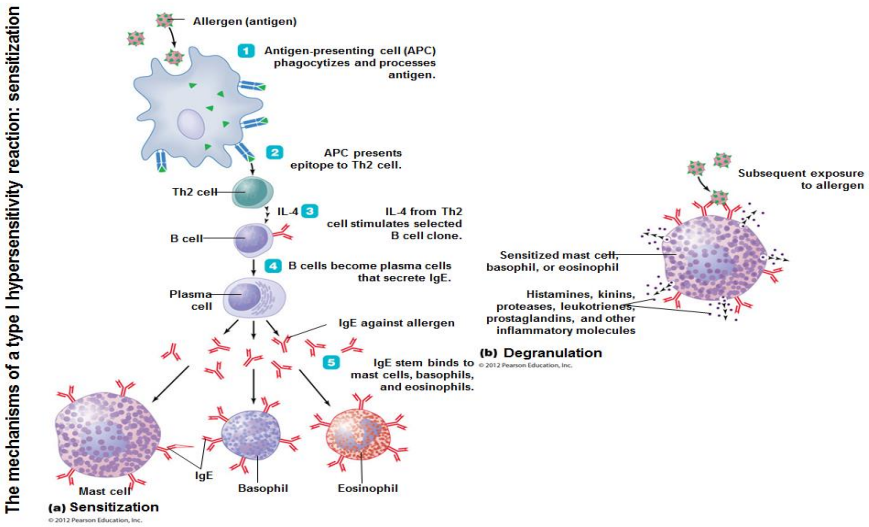
ب) آنافیلاتوکسین ها

روند ایجاد پاسخ ایمنی در ازدیاد حساسیت تیپ 1 بدین شکل است که زمانی که برای بار اول یک آلرجن وارد بدن شود لمفوسیت B آن را شناسایی کرده و آنتی بادی تولید می نمایند و در همین زمان لنفوسیت T نیز آن را شناسائی کرده و باعث کلاس سوئیچینگ و تولید IgE از طریق سایتوکین های خود می شوند. IgE ایجاد شده و ازطریق ناحیه FC خود روی ماست سل می نشیند .وقتی برای بار دوم همان آلرجن وارد بدن می شود ،آلرجن می تواند بروی IgE متصل به سطح ماست سل و بازوفیل اتصال یابد چونکه بار اول این آنتی بادی ها از طریق گیرنده به سطح این سلول ها اتصال یافته بودند. پس از این اتصال متقاطع آلرجن- آنتی بادی، ماست سل و بازوفیل محتویات خود را آزاد می کنند که این مواد دو دسته می باشند:

1) مواد از پیش ساخته شده
2) مواد جدیداً ساخته شده که در هنگام فعال شدن آزاد می شوند.

[1] Hypersensitivities

موادی که از پیش ساخته شده اند عبارتند از هیستامین و سروتونین که به آنها آمین های بیوجن گفته می شود. هیستامین موجب انقباض عضلات صاف، ترشح موکوس، توسع عروق و افزایش نفوذ پذیری عروق می گردد. ماست سل و بازوفیل هنگام فعال شدن موادی دیگر مثل آراشیدونیک اسید آزاد کرده که در دومسیر مختلف باعث تولید مواد متفاوت می شوند: 1) مسیر سایکلواکسیجناز که اسید آراشیدونیک را به پروستاگلاندین D2 و ترمبوکسانA2 تبدیل می کند.2)مسیر لیپواکسیجناز که در آن از اسید آراشیدونیک موادی مثل انواع مختلف لکوترین ها(B4،C4،D4،E4) ایجاد می گردد.



شکل1-6: روند ایجاد پاسخ ایمنی در ازدیاد حساسیت تیپ 1

پروستاگلاندین D2:

اثراتی مشابه هیستامین دارد اما قوی تر از آن می باشد. همچنین لکوترین ها که به آنها SRSA[1] گفته می شود شبیه هیستامین بوده ولی قوی تراز آن هستند منتهی این مواد دیرتر ترشح شده و در عوض دیرتر اثراتشان از بین می رود.

بیماری های ایجاد شده با مکانیسم ازدیاد حساسیت تیپ1(فوری):

این بیماری ها به دودسته موضعی و سیستمیک تقسیم بندی می شوند، در نوع موضعی آلرجن در محل ورود آنتی جن، آلرجی ایجاد می کند. از بیماری های تیپ 1 می توان به تب یونجه یا رینیت آلرجیک، آسم، گزش حشرات، حساسیت های دارویی و غذایی اشاره کرد .در رینیت آلرجیک، آلرجن از راه بینی وارد شده و علائمی مثل سرفه، عطسه، آبریزش بینی و تورم بینی ایجاد می کند. در آسم آلرجن وارد ریه شده و موجب تنگی نفس ، خس خس[2] سینه و ترشح موکوس می شود. نوع سیستمیک زمانی ایجاد می شود که آلرجن به صورت موضعی وارد بدن شود و از طریق خون به سرتاسر بدن منتشر شده و به یک باره تعداد زیادی بازوفیل و ماست سل را فعال کند که ممکن است به صورت شاک آنافیلاکسی بروزعلائم کند. در شاک آنافیلاکسی کاهش فشار خون و بسته شدن راههای هوایی رخ می دهد.

[1] Slow reactin sobestra of anaphylaxis
[2] wheezing

تشخیص ازدیاد حساسیت تیپ 1:

ازدیاد حساسیت تیپ 1 از طریق تستهای پوستی شامل پیریک تست(تست سوزنی) و تست های داخل درمی و همچنین تستهای رادیوایمنواسی صورت می گیرد.

ازدیاد حساسیت تیپ 2:

در ازدیاد حساسیت تیپ 2 تخریب و یا تغییر عملکرد سلول ها به وسیله سیستم ایمنی صورت می گیرد .از آنجا که این واکنش ها عموماً سلول های کشنده را درگیر می نمایند آنها را ازدیاد حساسیت سایتوتوکسیک نیز می نامند. ازدیاد حساسیت تیپ 2 به وسیله واکنش آنتی جنهای نامحلول(سطح سلول و یا بافت) با آنتی بادی های IgM و IgG از پیش تولید شده آغاز می گردد. این واکنش ها می توانند با توجه به نوع آنتی بادی عمل نموده و موجب تخریب بافت و یا سلول شوند . سلول هایی که در این واکنش ها دخالت دارند عبارت از ماکروفاژها، نوتروفیل ها، سلول های NK و ائوزینوفیل ها. این نوع حساسیت بیشتر بدلیل دخالت آنتی بادی و سیستم کمپلمان ایجاد می گردد و تعداد زیادی از بیماری های اتوایمیون را در بر می گیرد.

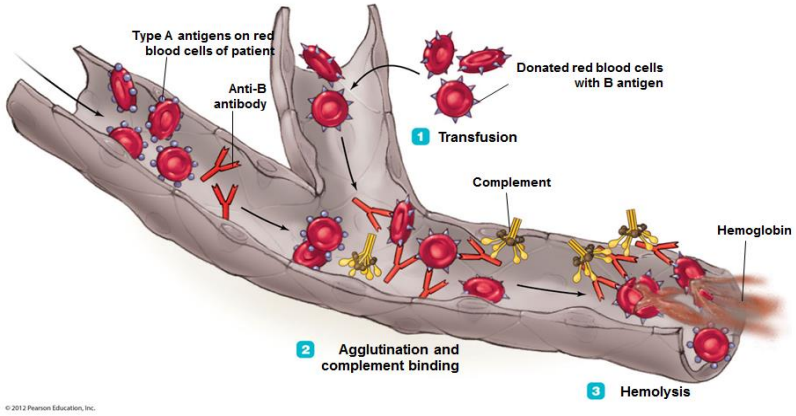
بیماری های ایجاد شده با مکانیسم حساسیت تیپ 2:

1) واکنش به سلول های خونی؛ برخی از واضح ترین مثال های ازدیاد حساسیت تیپ 2 در واکنش به سلول های خونی دیده می شود. مثلاً اختلاف فرد گیرنده خون با فرد دهنده از نظر آنتی جنهای سیستم ABO .
2) رد فوق حاد پیوند (Hyper Acute graft rejection)، رد فوق حاد پیوند زمانی رخ می دهد که فرد گیرنده آنتی بادی از پیش ساخته شده بر ضد آنتی جنهای پیوندی داشته باشد. شدیدترین نوع واکنش های رد حاد بر اثر آنتی جنهای سیستم ABO به وجود می آید.
3) بیماری همولیتیک نوزادان(1HDN)، زمانی که مادر و جنین از نظر ABO و RH اختلاف داشته باشند ایجاد می گردد.

نکته : اختلاف در RH شدیدتر بوده و حتی ممکن است به مرگ جنین منجر شود.

4) بیماری های خود ایمنی(اتوایمیون)؛ تعداد زیادی از بیماری های اتوایمیون وجود دارد که مکانیسم های ایجاد آنها ازدیاد حساسیت تیپ 2 می باشد. تب رماتیسمی، دیابت تیپ 1، سندرم گود- پاسچر، بیماری آدیسون و ...از جمله بیماری های با مکانیسم ازدیاد حساسیت تیپ2 می باشند.

[1] Hemolytic disease of newborn



شکل2-6: تخریب اریتروسیت های ناسازگار در داخل رگ بواسطه دخالت آنتی بادی و کمپلمان در واکنش های ازدیاد حساسیت نوع 2

ازدیاد حساسیت تیپ 3:

ازدیاد حساسیت تیپ 3، نتیجه واکنش آنتی بادی های IgM وIgG تولید شده از قبل با آنتی جن های محلول است که منجر به تشکیل کمپلکس آنتی جن -آنتی بادی می گردد. این کمپلکس ها به سادگی توسط سیستم ایمنی پاکسازی نشده و به همین دلیل این نوع ازدیاد حساسیت را ازدیاد حساسیت کمپلکس ایمنی می نامند .کمپلکس ایمنی فعال شده باعث فعال شدن کمپلمان می گردد و فراخوانی سلول ها به ویژه نوتروفیل ها باعث تخریب بافتی می شود . بنابراین کمپلمان و نوترفیل ها نقش اصلی در تخریب بافتی ازدیاد حساسیت تیپ 3 برعهده دارند.

انوع واکنش های ازدیاد حساسیت تیپ3:

واکنش های ازدیاد حساسیت تیپ 3 خود به دو دسته موضعی و سیستمیک تقسیم بندی می شوند:

الف) واکنش های موضعی ازدیاد حساسیت تیپ3

واکنش آرتوس؛ وقتی زرق داخل جلدی یک آنتی جن به فردی که دارای آنتی بادی است صورت می گیرد ،در محل زرق یک واکنش ادم، سفتی و سرخی بعد از چند ساعت به وجود می آید که به علت فعال شدن کمپلمان و تخریب به واسطه نوتروفیل ها می باشد.

بیماری ریه کشاورز که در اثر استنشاق اسپور قارچ ها و رسوب آن در ریه به وجود می آید.

بیماری کبوتربازان؛ استنشاق پروتئین های سرمی و فضولات کبوتر باعث آسیب بافتی به مکانیسم ازدیاد حساسیت تیپ3 می شود.

ب) واکنش های سیستمیک ازدیاد حساسیت تیپ 3

1) بیماری سرم که در اثر زرق سرم اسب و یا گونه های دیگر به وجود می آید .
چند هفته پس از زرق سرم هترولوگ(سرمی که برای گونه دیگر است) باعث بروز علائم واسکولیت (التهاب رگ)، آرتریت و گلومرونفریت می گردد.
2) لوپوس
3) عفونت های میکروبی مانند عفونت های استرپتوکوکی و هپاتیت B .

ازدیاد حسیاست تیپ 4:

ازدیاد حساسیت تیپ 4 و یا ازدیاد حساسیت تأخیری به واسطه سلول های T رخ می دهد .در این نوع ازدیاد حساسیت سلول های Th1، Th2وTh17 وNK می توانند نقش داشته باشند.

انوع واکنش های ازدیاد حساسیت تیپ4:

این واکنش ها به سه دستهٔ تماسی، توبرکولینی و گرانولومایی تقسیم می گردند.

نوع تماسی، تزریق آنتی جن محلول باعث بروز نوعی واکنش اگزامایی به نام ازدیاد حساسیت تماسی می شود. جذب آنتی جن به پوست توسط سلول های لانگرهانس و فعال کردن T-Cell ها منجر به بروز این نوع ازدیاد حساسیت می شود.

ازدیاد حساسیت نوع توبرکولینی؛ تزریق آنتی جن به داخل جلد(derm) یک واکنش تورم، سرخی و سفتی(این واکنش بدون سفتی ارزش ندارد)بوجود می آورد. از واکنش های توبرکولینی به منظور سنجش حساسیت به یک آنتی جن یا سنجش ایمنی سلولی استفاده می گردد. تست مانتو از تست های توبرکولینی می باشد که در آن آنتی جن مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تزریق می گردد(PPD) . همچنین برای سنجش ایمنی سلولی می توان از این تست استفاده نمود. افرادی که در مراحل انتهای عفونت HIV قرار دارند از نظر این تست منفی می باشند.

در ازدیاد حساسیت نوع توبرکولینی ، Th1، ماکروفاژها را با سایتوکین های خود تحریک نموده و ماکروفاژها به دوشکل یعنی سلول های اپیتلیوئید(شبه اپیتلیال) و سلول های غول آسا دیده می شوند(سلول های غول آسا ماکروفاژهای چند هسته ای هستند که ادغام شده اند).

ازدیاد حساسیت تاخیری نوع گرانولومایی؛ در صورتی که آنتی جن در ازدیاد حساسیت توبرکولینی ازبین نرود نتیجه اش ایجاد گرانولوما می باشد. در یک گرانولوما سلول های T، ماکروفاژ، فیبروبلاست و آنتی جن دیده می شود که آنتی جن به واسطه فرآورده های فیبروبلاست محصور شده و آسیب بافتی ایجاد می گردد.

تلگرام https://t.me/Khu_medical

فصل هفتم

بیماری های نقص ایمنی[1]

همانند تمام سیستم های پیچیده چند جزئی، سیستم ایمنی نیز در معرض نارسایی های برخی یا تمام اجزای خود می باشد .این نارسایی ها می توانند پیامدهای شومی داشته باشند هنگامی که این سیستم قدرت تشخیص خودی از بیگانه را از دست دهد، نتیجه آن خود ایمنی[2] می باشد، زمانی که این سیستم با ناتوانی درحفاظت میزبان از عوامل بیماری زا یا سلول های بدخیم دچار خطا شود، نتیجه آن نقص ایمنی بوده که موضوع این فصل می باشد. به حالتی که در اثر یک نقص جنتیکی یاتکاملی در سیستم ایمنی ایجاد شود، نقص ایمنی اولیه می گویند. در چنین شرایطی، نقص از زمان تولد وجود داشته، هر چند که ممکن است تا مراحل بعدی زندگی خود را نشان ندهند. نقص ایمنی ثانویه یا اکتسابی از دست دادن عملکرد ایمنی بوده و از قرارگیری در معرض عوامل متنوعی ایجاد می شود. رایج ترین نقص ایمنی ثانویه تاکنون سندرم نقص ایمنی اکتسابی یا ایدز بوده است که در نتیجه عفونت با ویروس نقص ایمنی انسانی -1 (HIV1) ایجاد می شود. در سال 2005 ، ایدز تقریباً جان 3 میلیون نفر را گرفت که 500000 هزار نفر آن را کودکان زیر سه سال شامل می شد. بیماران مبتلا به ایدز همانند سایر افراد مبتلا به کمبود ایمنی حاد در معرض خطر عفونت با عوامل فرصت طلب[3] می باشند. اینها میکروارگانیسم هایی هستند که افراد سالم بدون این که به بیماری دچار شوند با آنها زندگی می کنند ولی در افرادی که عملکرد ایمنی تخریب شده دارند، موجب ایجاد بیماری می شوند.

کمبودهای ایمنی اولیه

یک کمبود ایمنی اولیه می تواند بر عملکردهای ایمنی اکتسابی یا ذاتی تاثیر بگذارد. بنابراین، کمبودهای ایمنی اکتسابی مثل نقص در سلول های B و T از کمبود در اجزای ایمنی ذاتی مثل فاگوسیت ها یا کمپلمان، متمایز می باشند.

پیامدهای کمبود ایمنی اولیه به تعداد و نوع اجزای سیستم ایمنی درگیر در آن، بستگی دارد. نقایص اجزای ابتدایی خونسازی کل سیستم ایمنی را تحت تاثیر قرار می دهند. در این دسته، می توان به رتیکولاردیس ژنز[4] اشاره کرد که نقص یک سلول بنیادی بر بلوغ تمام لکوسیت ها تاثیر می گذارد و نارسایی ایمنی حاصله منجر به استعداد ابتلا به عفونت توسط طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها میگردد. بدون درمان تهاجمی(مثلاًپیوند مغز استخوان)، معمولاً فرد مبتلا در اثرعفونت شدید در جوانی فوت می کند. نقایص اجزای کاملاً تمایز یافته سیستم ایمنی پیامدهای اختصاصی تر و معمولاً خفیف تری دارند. برای مثال، فرد مبتلا به کمبود انتخابی IgA می تواند از تمام زمان زندگی خود لذت ببرد و تنها کمی بیشتر از افراد طبیعی، به عفونت های تنفسی و مجاری ادراری – تناسلی حساس می باشد.

---

[1] Immunodeficiency disease
[2] Auto immune
[3] Opportunist
[4] reticular dysgenesis

ویژگی های عمومی بیماری های نقص سیستم ایمنی:

1) **افزایش استعداد ابتلا به انواع مختلف عفونت ها**: نوع ایجاد عفونت بستگی به نوع سلول ایمنی یا اجزایی از سیستم ایمنی بستگی دارد که دچار نقص شده است. مثلاً نقص در ایمنی هومرال باعث افزایش ابتلا به عفونت های چرکزا می شود در حالی که نقص در ایمنی سلول منجر به افزایش استعداد ابتلا به عفونت های ویروسی و میکروب های داخل سلولی می گردد. و این در حالی است که نقص هر دوسیستم ایمنی سلولی و هومرال موجب افزایش ابتلا به انواع و طیف کثیری از میکروارگانیسم های مختلف می شود.
2) **استعداد ابتلا به انواع مختلف سرطان**: همان طور که می دانید سلول های ایمنی بخصوص CD8+ نقش مهمی در شناسایی سلول های سرطانی و از بین بردن آنها دارند و روزانه تعدادی زیادی از سلول های بدن دچار موتاسیون های سرطان زا می شوند که نقص در شناسایی این سلول ها موجب ایجاد انواع سرطان ها می شود.
3) **ایجاد عفونت های مزمن**: بیماران با نقص سیستم ایمنی بطور مزمن به انواع مختلف عفونت مبتلا می شوند.
4) **ابتلا به عفونت های غیر معمول و فرصت طلب**: بطور مثال انگل هایی مانند توکسوپلاسما و یا پنموسیستیس کارینی در افراد سالم مشکل جدی ایجاد نمی کنند ولی در افرادی با نقص سیستم ایمنی، می توانند مشکلات جدی و مرگبار را باعث شوند.
5) **عدم پاک سازی کامل کمپلکس های ایمنی**: نقص در سلول های سیستم ایمنی مثل ماکروفاژها و یا اجزاء سیستم کمپلمان موجب حذف ناقص کمپلکس های Ag-Ab در بدن می گردد.
6) **عدم پاسخ مناسب به درمان در عفونت های باکتریایی**: بیمارانی که دچار نقص سیستم ایمنی هستند معمولاً به درمان های آنتی بیوتیک در نتیجه باکتری های چرکزا پاسخ کامل و مناسبی نمی دهند.
7) **پاسخ نامناسب به واکسیناسیون**: این بیماران نتنها به واکسیناسیون پاسخ مناسب ایجاد نمی کنند بلکه واکسین هایی که در نتیجه ویروس های ضعیف شده تولید شده اند ممکن است در آنها بیماری های شدید و خطرناکی ایجاد نماید.

انواع بیماری های نقص سیستم ایمنی:

الف) **اولیه:** در نتیجه نقص های جنتیکی در تکامل و تولید سلول های سیستم ایمنی ایجاد می گردد مثل: نقص سیستم ایمنی مخلوط و شدیدSCID [1] ، سندرم لمفوسیت های برهنه[2] ، نقصIgA، سندرم چدیاک هیگاشی، سندرم دی جرج و...

ب) **اکتسابی**: بدلیل بیماری های مختلف سلول های سیستم ایمنی دچار نقص و فقدان عملکرد می شوند مثل: ایدز، سرطان ها، مصرف ادویه سرکوب کننده سیستم ایمنی[3] ، افزایش سن و....

نقص ایمنی مخلوط شدیدSCID:

خانواده ناهنجاری های SCID از نقایص تکاملی لنفوئید نشأت گرفته که یا سلول های T را به تنهایی و یا همراه با سلول های B وNK تحت تاثیر قرار می دهند. بسته به نوع نقص جنتیکی ، یک بیمار SCID می تواند یکی از چندین فنوتیپ سلول لنفاوی را داشته باشد. تمامی آنها با نقص در عملکرد سلول T مشخص می شوند و این نقص عملکردی می تواند به سلول های BوNK نیزگسترش یابد. بدلیل این که نقص سلول T در تمام موارد SCID مشترک می باشد، اخیراً یک تست

[1] severe combined immunodeficiency
[2] Bare lymphocyte syndrome
[3] Immunosuppressive

غربالگری برای نوزادان توصیف شده است که مستلزم اندازه گیری قطعات حلقوی DNA بریده شده از لوکوس TCR در سلول های خونی است که شاهدی بر نوترکیبی جن TCR می باشند. نتایج غیر طبیعی این آزمایش، تشخیص زودهنگام را قبل از شروع عفونت های مهلک، امکان پذیر می سازد. تمامی اشکال SCID علیرغم تفاوت های نقص های جنتیکی، دارای خصوصیات مشترکی می باشند. از نظر بالینی SCID با تعداد بسیار کم لنفوسیت های در گردش، مشخص می گردد و ایجاد پاسخ ایمنی با واسطه سلول های T یا B با شکست مواجه می شود. تیموس تکامل نمی یابد و تعداد کمی از لنفوسیت های T در حال گردش بیمار SCID به میتوژن ها پاسخ داده که نشان می دهد آنها در برابر آنتی جن ها قادر به تکثیر نمی باشند. سلولهای میلوئید و اریتروئید(پیش سازهای اریتروسیت) در این بیماران از نظر تعداد و عملکرد طبیعی می باشند(درSCID تنها سلول های لنفوئید دچار مشکل هستند).

SCID منجر به عفونت های عودکننده شدید می شود. معمولاً در سال های اولیه زندگی موجب مرگ می گردد. هر چند که ممکن است هر دو رده سلولی T وB تحت تاثیر قرار گیرند، شروع بارز شدن SCID در نوزادان، تقریباً همیشه با عفونت در اثر عوامل قارچی و ویروسی مشخص می گردد که در حالت طبیعی با پاسخ سلول T سروکار دارند. نقایص رده سلولی B در چند ماه اول زندگی مشهود نمی باشند، زیر آنتی بادی ها قبلاً به صورت غیر فعال از طریق گردش خون جفت یا شیر مادر بدست آمده اند. نوزادان مبتلا به SCID از اسهال مزمن، پنومونی و آسیب های پوست، عفونت دهان وگلو به عنوان میزبان عفونت های فرصت طلب رنج می برند. سیستم ایمنی به قدری تضعیف شده است که حتی واکسن های زنده ضعیف شده(مثل واکسن سابین فلج اطفال)قادر به ایجاد عفونت و بیماری می باشند. با جلوگیری از تماس با تمامی میکروارگانیسم های بالقوه آسیب رسان مدت زمان حیات یک بیمار SCID را را می توان طولانی کرد. هر چند که برای جلوگیری از تماس مستقیم با سایر افراد و هوای تصفیه نشده به تلاش های فوق العاده ای نیاز می باشد. جستجو برای نقایصی که در SCID دخیل هستند، چندین عامل را برای این نارسایی کلی سیستم ایمنی مشخص کرده است که مهمترین آنها شامل موارد ذیل می باشد.

1) **نقص در زنجیره گامای گیرنده IL2**: این گیرنده در تکامل و فعالیت سلول های T نقش مهمی دارد و همچنین در انتقال پیام توسط اینترلوکین های 9،7،4و15 نیز شرکت دارد.
2) **نقص در گیرنده IL7**: نقص این گیرنده فقط سلول های T را درگیر نموده ولی سلول های B و NK طبیعی می باشند. این بیماری می تواند یا به صورت وابسته به X[1] و یا به صورت آتوزومال باشد.
3) **نقص آنزیم ADA[2]** : این انزایم تبدیل آدنوزین به اینوزین را کاتالیز می کند و نقص آن منجر به تجمع آدنوزین می گردد که در متابولیسم پورین ها و سنتزDNA تداخل ایجاد میکند. کمبود ADA منجر به نقایص سلول هایT،B و NK می شود.
4) **نقص در انزایم های RAG1 وRAG2**: نقص در این انزایم ها باعث ایجاد نقص در گیرنده های سلول های Tو تکامل سلول های B برای ترشح آنتی بادی می گردد ولی سلول های NK مشکلی خاصی نخواهند داشت.
5) **نقص در جن انزایم آرتمیس**: در نوترکیبی و ترمیم DNA هنگام عمل RAG1 وRAG2 موثر می باشد.
6) **نقص ZAP-70** : این انزایم نقش موثری در انتقال پیام در سلول هایT دارد و در کمبود آن میزان آنتی بادی و سلول های CD4+ طبیعی می باشد ولی CD4+ ها از لحاظ عملکرد غیر طبیعی می باشند.

[1] X-linked SCID
[2] Adenosine deaminase

7) **نقص انزایم پورین نوکلئوزید فسفریلاز PNP**[1]: در نقص این انزایم بروز مولکول های MHCII در سطح سلول با مشکل مواجه شده(سندرم لمفوسیت های برهنه[2]) لمفوسیت ها قادر به برقراری ارتباط با سلول های T کمکی نیستند.

8) **نقص در جن های TAP**: در این نوع نقص بروز مولکول های MHCI مشکل داشته و سلول های +CD8 را تحت تاثیر قرار می دهد و بیمار بیشتر به عفونت های ویروسی حساس می باشد.

در جدول 1-7 انواع نقایص آنزیمی مربوط به SCID آمده است.

Disease	Functional deficiencies	Mechanism of defect
A. Defects in cytokine signaling		
X-linked SCID	Marked decrease in T cells; normal or increased B cells; reduced serum Ig	Cytokine receptor common γ chain mutations; defective T cell development in the absence of IL-7 derived signals
Autosomal recessive forms	Marked decrease in T cells; normal or increased B cells; reduced serum Ig	Mutations in IL-2Rα chain, IL-7Rα chain, JAK3
B. Defects in nucleotide salvage pathways		
ADA deficiency	Progressive decrease in T, B, and NK cells; reduced serum Ig	ADA deficiency leading to accumulation of toxic metabolites in lymphocytes
PNP deficiency	Progressive decrease in T, B, and NK cells; reduced serum Ig	PNP deficiency leading to accumulation of toxic metabolites in lymphocytes
C. Defects in V(D)J recombination		
RAG1 or RAG2 deficiency*	Decreased T and B cells; reduced serum Ig; absence or deficiency of T and B cells	Cleavage defect during V(D)J recombination; mutations in RAG1 or RAG2
ARTEMIS defects*	Decreased T and B cells; reduced serum Ig; absence or deficiency of T and B cells	Failure to resolve hairpins during V(D)J recombination; mutations in ARTEMIS
D. Defective thymus development		
Defective pre-TCR checkpoint	Decreased T cells; normal or reduced B cells; reduced serum Ig	Mutations in CD45, CD3δ, CD3ε, Orai1 (CRAC channel component)
DiGeorge syndrome	Decreased T cells; normal B cells; normal or reduced serum Ig	22q11 deletion; T box-1 (TBX1) transcription factor mutations
E. Other defects		
Reticular dysgenesis	Decreased T, B, and myeloid cells	Mutation not identified

Abbreviations: ADA, adenosine deaminase; CRAC, calcium release activated channel; PNP, purine nucleoside phosphorylase.

*Hypomorphic mutations in RAG genes and in ARTEMIS can contribute to Omenn syndrome.

جدول7-1: انواع نقایص آنزیمی مربوط به SCID

سندرم ویسکوت – آلدریچ[3]:

شدت این ناهنجاری وابسته به جنس، با افزایش سن زیادتر شده و معمولاً منجر به عفونت کشنده یا بدخیمی لنفاوی می گردد. تعداد سلول های BوT طبیعی بوده، پاسخ به پلی ساکاریدهای باکتریای، مشکل داشته و مقادیر IgM پایین تر از متوسط می باشند. در اوایل این بیماری سایر پاسخ ها و مکانیسم های اجرایی طبیعی می باشند. با افزایش سن فرد مبتلا به ویسکوت آلدریش می شود که این سندرم شامل ترومبوسایتوپنی(شمارش کاهش یافته پلاتلت ها) بوده که می تواند به خونریزی کشنده منجر گردد. اگزما(راش های پوستی) در درجات مختلف شدت نیز می تواند رخ دهد که معمولاً در حدود

[1] purine nucleoside phosphorylase
[2] Bare Lymphocyte syndrome
[3] Wiskott-Aldrich Syndrome (WAS)

سن یک سالگی آغاز می شود. در این بیماری مشکل مربوط به بازوی کوتاه کروموزوم X می باشد وجن کد کننده یک گلیکوپروتئین اسکلت سلولی موجود در سلول های لنفاوی به نام سیالوفورین[1](CD43) درگیر می باشد.

نقص گیرنده اینترفرون گاماIFNγ:

نقص در پذیرنده اینترفرون گاما، نوعی از نقص ایمنی است که در طبقه سلول های مختلط قرار می گیرد. این نقص در بیمارانی که از عفونت با مایکوباکتریوم های آتیپیک(ارگانیسم های داخل سلولی که با عوامل ایجاد کننده توبرکولوز و جذام ارتباط دارند) رنج می برند. دیده می شود اکثر افرادی که این صفت اتوزومال مغلوب را حمل می کنند، دارای سابقه ازدواج های فامیلی هستند. استعداد ابتلا به عفونت با مایکوباکتری ها در این افراد به صورت انتخابی بوده و افرادی که از این عفونت ها زنده بمانند، به صورت غیر معمول به سایر عوامل درون سلولی حساس نمی باشند. این نقص ایمنی، به نقش اختصاصی IFNγ و پذیرنده اش در محافظت در برابر عفونت با مایکوباکتریوم ها اشاره دارد. آنالیز جزئیات بیماران مبتلا به عفونت های مایکوباکتربومی، نقص در پذیرنده IL2 را نیز همانند پذیرنده INFγ نشان می دهد. چنین پیشگویی را می توان در مورد نقایص مسیر NFkB که مانع از نسخه برداری جنهای IFNγ می شوند نیز مطرح کرد.

آگاماگلبولنیمی وابسته بهX[2] :

یک نقص سلول B به نام آگاماگلبولنیمی وابسته بهX یا هایپوگاماگلبولنیمی بروتون با سطوح بسیار پایین IgGو غیاب سایر کلاس های ایمونوگلبولین مشخص می شود. افراد مبتلا بهX-LA فاقد هیچ گونه سلولB محیطی بوده و از عفونت های باکتریایی عودکننده که در حدود سن 9 ماهگی شروع می شوند، رنج می برند. یک درمان تسکین دهنده برای این حالت، تجویز دوره ای ایمونوگلبولین می باشد ولی، بیماران به ندرت تا سنین نوجوانی زنده می مانند. در این ناهنجاری، نقصی در یک مولکول انتقال دهنده پیام به نام تیروزین کیناز بروتون[3] وجود دارد. سلول های B در بیماران مبتلا به X-LA درمرحله Pre-B با زنجیره های H نوترکیبی شده باقی می مانند، ولی جنهای زنجیره L در ردهٔ زایا قرار داشته و از این مرحله فراتر نمی روند.

سندرم هایپرIgM وابسته به X[4]:

یک نقص ایمونوگلبولین عجیب که در ابتدا تصور می شد که در نتیجه نقص سلول های B باشد، اما اخیراً نشان داده شده که از نقصی درمولکول سطحی سلول T حاصل می شود. سندرم هایپرIgM وابسته به X با کمبود IgG ،IgE IgA و مقادیر افزایش یافته IgM مشخص می شود. با وجودی که افراد مبتلا به XHM تعداد طبیعی از سلول های B بیان کننده IgM وIgD غشایی را دارند ولی فاقد سلول های بیان کننده IgE, IgA, IgG می باشند. سندرم XHM معمولاً به صورت یک

[1] Sialophorin
[2] X-Linked agammaglobulinemia
[3] bruton tyrosine kinase(Btk)

اختلال مغلوب وابسته به جنس به ارث می رسد ولی به نظر می رسد برخی اشکال آن به صورت اکتسابی بوده و هر دوجنس را تحت تأثیر قرار دهد. افراد مبتلا دارای شمارش بالای پلاسماسل های ترشح کنندهٔ IgM در خون محیطی و بافت های لنفاوی خود هستند. علاوه براین، بیماران دارای مقادیر بالای اتوآنتی بادی علیه اریتروسیت ، پلاتلت ها و نوتروفیل های خود نیز می باشند. کودکان مبتلا به XHM از عفونت های عود کننده، خصوصاً عفونت های تنفسی رنج می برند که شدت این عفونت ها از آنهایی که بدلیل کاهش مقادیر ایمونوگلبولین ایجاد می شوند، بیشتر می باشد. نقص XHM مربوط به جن کد کنندهCD40L بوده که بر روی کروموزوم X واقع شده است. سلول های Th بیماران XHM قادر به بیان مولکول CD40L عملکردی بر سطح غشای خود نمی باشند. و از آنجایی که میانکنش بین CD40 در سلول هایB و CD40L در سلول هایTh برای فعال سازی سلول های B ضروری می باشد، غیاب این پیام کمک تحریکی مانع از پاسخ سلول هایB به آنتی جنهای وابسته بهT می گردد. تغییر کلاس و تشکیل سلول هایB خاطره ای، مستلزم تماس با سلول هایTh بواسطه میانکنش CD40-CD40L بوده و درXHM بدلیل غیاب این میانکنش، تغییر کلاس به ایزوتایپ های IgE, IgA, IgG و همچنین تولید سلول هایB خاطره ای با مشکل مواجه می شود. علاوه بر آن، بیماران XHM قادر به ایجاد مراکززایشی هنگام پاسخ های هومورال نبوده که نشان دهندهٔ نقش میانکنش CD40-CD40L در شکل گیری مراکز زایشی می باشد.

نقص ایمنی شایع متغیر[1]CVI

CVI با کاهش شدید پلاسماسل های تولید کننده آنتی بادی، کاهش اکثر ایزوتایپ های ایمونوگلبولین (هایپوگاماگلبولینمی) و عفونت های راجعه مشخص می شود. این حالت نسبت به سایر نقایص در مراحل دیرتری از زندگی رخ داده و گاهی اوقات با نام هایپوگاماگلبولینمی تأخیری و یا به اشتباه، هایپوگاماگلبولینمی اکتسابی خوانده می شود. در حالی که CVI یک جزء جنتیکی داشته و یک نقص ایمنی اولیه قلمداد می شود، ولی الگوی دقیق توارث آن شناخته نشده است. بدلیل تشابه زیاد این ناهنجاری با هایپوگاماگلبولینمی اکتسابی، معمولاً این دو شکل با یکدیگر اشتباه می شوند. عفونت های مبتلایان به CVI، اغلب باکتریایی بوده و می توانند با تجویزایمونوگلبولین، کنترل شوند. در بیماران CVI، سلول هایB در پاسخ به پیام های تمایزی مناسب، قادر به بالغ شدن و تبدیل به پلاسماسل نمی باشند .نقص اصلی درCVI شناخته نشده است ولی می بایست انسدادی در مسیر بلوغ سلول های B به پلاسماسل ها در شرایط In vivo یا عدم توانایی آنها در تولید اشکال ترشحی آنتی بادی ها وجود داشته باشد.

سندرم هایپرIgE:

به این بیماری سندرم جاب نیز گفته می شود و یک نقص ایمنی اولیه بوده که با آبسه های پوستی. پنومونی عود کننده، اگزما و مقادیربالای IgE مشخص می شود و با ناهنجاری های صورت و شکنندگی استخوانها همراه می باشد. این اختلال چندگانه به صورت اتوزومال غالب به ارث رسیده و بیان متغیری دارد. ژن سندرم جاب یا HIES بر روی کروموزوم 4 واقع شده است. علائم ایمونولوژیک HIES شامل عفونت های راجعه و ائوزینوفیلی به علاوه مقادیر بالای IgE می باشد.

کمبود انتخابی کلاس های ایمونوگلبولین

تعدادی از حالات نقص ایمنی بوده که با مقادیر کاهش یافته ایزوتایپ های ایمونوگلبولین اختصاصی مشخص می شوند و در میان آنها کمبود IgA شایع ترین مورد می باشد. اطلاعات مرتبط با خانواده نشان می دهند که کمبود IgA برخی اوقات،

[1] common variable immunodeficiency

همراه با CVI در یک خانواده بروز می کند که پیشنهاد دهندهٔ وجود ارتباط بین این حالات می باشد. طیف علائم بالینی کمبودIgA گسترده می باشد؛ بسیاری از مبتلایان فاقد علامت بوده، درحالی که بقیه از یک سری مشکلات جدی رنج می برند. عفونت های راجعه مجاری تنفسی و ادراری – تناسلی در نتیجه کمبود IgA ترشحی در سطوح مخاطی، شایع می باشند. علاوه بر آن، مشکلاتی مانند سؤ جذب روده ای ، بیماری های آلرجیک و اختلالات خود ایمنی نیز می توانند با مقادیر کم IgA ارتباط داشته باشند. دلایل تنوع حالات بالینی کمبودIgA مشخص نمی باشد ولی ممکن است به علت جایگزینی IgM به عنوان آنتی بادی مخاطی توسط برخی از بیماران باشد. نقص کمبود IgA، با عدم توانایی سلول های B عرضه کننده IgA در تمایز طبیعی به پلاسماسل های ترشح کننده IgA مرتبط می باشد. در بیماران مبتلا به کمبود IgA، زیر کلاس های IgG مانند IgG2 وIgG4 نیز ممکن است با کمبود مواجه شوند، در حالی که مولکول های IgA سطحی این بیماران، به صورت طبیعی بیان می شوند. به نظر می رسد که جنهایی خارج از مجموعه جنی ایمونوگلبولین، مسئول این سندرم نسبتاً شایع می باشند. کمبودهای ایمونوگلبولینی دیگری نیز گزارش شده اند ولی نادر می باشند. کمبود IgM به عنوان یک صفت اتوزومال مغلوب شناخته می شود. این بیماران در معرض عفونت شدید با عواملی مثل مننگوکوک بوده که منجر به بیماری کشنده می شود. کمبود IgM ممکن است با بدخیمی های مختلف یا بیماری های خود ایمن همراه باشد. کمبودهای IgG نیز نادر می باشند. این حالات معمولاً تا سنین بلوغ شناخته نمی شوند و با تجویز ایمونوگلبولین به صورت مؤثری درمان می شوند.

آتاکسی تلانژکتازی[1]:

با وجودی که آتاکسی تلانژکتازی در ابتدا به عنوان نقص ایمنی شناخته نمی شد ولی این سندرم با کمبود IgA و برخی مواقع IgE همراه می باشد. این سندرم با اشکال در حفظ تعادل(آتاکسی)و شکنندگی عروقی(تلانژکتازی)چشم مشخص می شود. به نظر می رسد که نقص اولیه در این بیماری مربوط به کیناز دخیل در تنظیم چرخه سلولی باشد. ارتباط میان نقص ایمنی و سایر نقایص آتاکسی تلانژکتازی مشخص نمی باشد.

سندرم دی جرج[2]:

بیماری می باشد که در آن عملکرد تایموس دچار اختلال شده و در نوع شدید آن تایموس اصلاً وجود ندارد و تکامل پیدا نمی کند. این نقص تکاملی، با حذف قسمتی ازکروموزوم 22 در دوران جنینی مرتبط بوده که منجر به نقص ایمنی همراه با ناهنجاری های صورتی، هایپوپاراتیروئیدیسم و بیماری مادرزادی قلب می گردد. نقص ایمنی شامل سرکوب شدید تعداد سلول های T و غیاب پاسخ های سلول T می باشد. با وجودی که تعداد سلول های B طبیعی می باشد ولی افراد مبتلا در پاسخ به ایمونیزاسیون با آنتی جنهای اختصاصی، آنتی بادی تولید نمی کنند. پیوند تیموس به منظور تصحیح نقایص سلول T از ارزش نسبی برخوردار می باشد ولی تعداد زیادی از بیماران مبتلا به سندرم دی جرج دارای چنان بیماری قلبی شدیدی هستند که حتی با تصحیح نقایص ایمنی نیز شانس اندکی برای بقای طولانی مدت دارند. با وجودی که سندرم دی جرج از یک آنومالی درون رحمی یا تکاملی نشأت می گیرد، ولی هایپوپلازی تیموس یا سندرم نزلوف[3] یک ناهنجاری ارثی بوده که چگونگی توارث آن شناخته نشده و تظاهرات متغیر آن نیز تشخیص این بیماری را با مشکل مواجه می کند. همان طور که از نام آن پیداست، هایپوپلازی

[1] Ataxia telangiectasia
[2] Digeorge syndrome
[3] Nezelof syndrome

تیموس نقصی است که در آن، بقایای تیموس قادر به انجام عمل خود در تکامل سلول های T نمی باشد. در برخی از بیماران سلول های B طبیعی بوده، در حالی که در بقیه موارد، نقص سلول B نیز در پی نقص سلول T دیده می شود. افراد مبتلا از اسهال مزمن ، عفونت های ویروسی و قارچی و نقص عمومی رشد رنج می برند.

کاهش شمارش نوتروفیل ها:

همانطور که می دانید نوتورفیل همراه منوسیت ها از مهمترین بیگانه خوارهای سیستم ایمنی ذاتی می باشند و جزء اولین سلول هایی می باشند که خود را به محل عفونت می رسانند و کمبود آنها بیشتر ایمنی ذاتی را تحت تاثیر قرار می دهد برخلاف لمفوسیت ها که کاهش تعداد یا فقدان عملکرد صحیح آنها ایمنی اکتسابی را تحت تاثیر قرار می دهد. نقایص کمی نوتروفیل ها از غیاب کامل آنها که آگرانولوسیتوز نام داشته تا کاهش در غلظت نوتروفیلهای خون محیطی به کمتر از 1500عدد بر میلی متر مکعب می رسد(نوتروپنی) متغیر می باشند. این نقایص کمی ممکن است در نتیجه مشکلات مادرزادی یا بواسطه عوامل خارجی ایجاد شوند. نوتروپنی های اکتسابی به مراتب شایع تر از نوتروپنی های مادرزادی می باشند. نوتروپنی مادرزادی اغلب به دلیل نقایص جنتیکی که بر روی سلول های بنیادی ردهٔ میلوئید تاثیر دارند، ایجاد می شود و منجر به کاهش تولید نوتروفیل ها طی خونسازی می گردد. در آگرانولوسیتوز مادرزادی، سلول های بنیادی میلوئید در مغز استخوان حضور دارند ولی به ندرت تا مرحله پرومیلوسیتی تمایز می یابند. در نتیجه، نوزادان متولد شده در این شرایط دارای نوتروپنی شدید و شمارش نوتروفیل کمتر از200 نوتروفیل در هر میلی متر مکعب می باشند. این کودکان در اولین ماه زندگی خود از عفونت های متناوب باکتریایی رنج می برند، در حالی که نوزادان طبیعی در این سن بواسطه آنتی بادی های مادری و همچنین مکانیسم های ایمنی ذاتی مثل نوتروفیل ها، محافظت می شوند. شواهد تجربی نشان می دهند که این نقص جنتیکی منجر به کاهش تولید G-CSF[1] و در نتیجه نارسایی سلو ل بنیادی میلوئید در تمایز به رده گرانولوسیت می گردد. نوتروفیل ها طول عمر کوتاهی داشته و پیش سازهای آنها می بایست به سرعت در مغز استخوان تقسیم شوند تا سطوح کافی این سلول ها در گردش خون حفظ شود. به این دلیل عواملی مثل اشعه و داروهای خاص(مانند داروهای شیمی درمانی) که به صورت اختصاصی بر سلول های به سرعت تقسیم شونده آسیب می رسانند، احتمالاً منجر به نوتروپنی می شوند گهگاه در بیماری خود ایمن مثل سندرم شوگرن یا لوپوس اریتماتوز سیستمیک نیز نوتروپنی دیده می شود. در این شرایط، اتوآنتی بای ها نوتروفیل ها را تخریب می کنند. نوتروپنی گذرا اغلب پس از عفونت های ویروسی یا باکتریایی خاصی بوجود می آید، ولی با برطرف شدن عفونت شمارش نوتروفیل ها نیز طبیعی می شود.

نکته : درست است که در جریان عفونت های باکتریایی ممکن است تعداد نوتروفیل ها کاهش یابد و آن هم بدلیل این است که مصرف نوتروفیل ها و برداشت آن از جریان خون افزایش می یابد ولی مغز استخوان برای جبران این کمبود شروع به ساخت مقدار زیادی نوتروفیل می کند و با آزاد شدن نوتروفیل ها از مغز استخوان، میزان نوتروفیل ها در جریان خون افزایش شدید می یابد(نوتروفیلی) و باید توجه داشت که نوتروفیلی یک از مشخصه های اصلی عفونت های میکروبی می باشد.

[1] Granulocyte-Colony stimulating Factor

بیماری گرانولوماتوز مزمن[1]:

CGD یک بیماری جنتیکی است که حداقل به دو صورت جداگانه به چشم می خورد: یک شکل وابسته به جنس که در حدود70٪ موارد را به خود اختصاص می دهد و یک شکل اتوزومال مغلوب که شامل بقیه موارد می باشد. این بیماری در نتیجه نقص در مسیر اکسیداتیو می باشد که فاگوسیت ها به وسیلهٔ آن، پراکسید هیدروجن و محصولات واکنشی حاصله مثل اسیدهیپوکلرو(HOCL) را تولید می کنند و باکتریها فاگوسیت شده را می کشند. مبتلایان به CGD دستخوش واکنش های التهابی شدید گشته که منجر به التهاب لثه ها، تورم غدد لنفاوی و گرانولوماهای غیر بدخیم می گردد. آنها همچنین به عفونتهای باکتریایی و قارچی حساس می باشند. بیماران CGD مخصوصاً در معرض عفونت توسط باکتری هایی مانند پنوموکوک که پراکسید هیدروجن تولید می کنند، قرار ندارند. دراین مورد، میلوپراکسیداز سلول میزبان، از پراکسیدهیدروجن باکتریایی استفاده کرده و اسید هیپوکلروی لازم برای خنثی کردن عفونت را تولید می کند. چندین نقص مرتبط با هم میتوانند به CGD منجر شوند که شامل فقدان یا نقص یک سیتوکروم (Cyt b558) که در مسیر اکسیداتیو فعالیت دارد و نقص در یک پروتئین تثبیت کننده سیتوکروم (فاگوزوم اکسیداز یا phox) می باشند. علاوه بر نقص عمومی در عملکرد کشندگی فاگوسیت ها، در توانایی سلول های تک هسته ای به عنوان APC نیز کاهش دیده می شود و هم پردازش و هم عرضه آنتی جن ها تضعیف می گردد. در صورت استفاده از سلول های تک هسته ای به عنوان APC در بیماران CGD، جهت شروع فعالیت سلو لهای T کمکی به مقادیر بالایی از آنتی جن نیاز می باشد.

مطالعات نشان داده است که استفاده از اینترفرون گاماINFγ موجب افزایش فعالیت فاگوسیتی منوسیت و نوتروفیل شده و تلاش می شود در آینده برای درمان بیماران CGD ازاینترفرون گاما استفاده گردد، زیرا متوجه شده اند که اینترفرون گاما باعث افزایش فعالیت اکسیداتیو و سیتوکروم می شود. علاوه بر آن ، آگاهی از نقایص دقیق جنی در CGD، به عنوان کاندیدی برای جن درمانی در آینده و جایگزین کردن سیتوکروم معیوب نتایج امیدوارکننده ای داشته است.

سندرم چدیاک - هیگاشی[2]:

این بیماری اتوزومال مغلوب با عفونت های راجعه باکتریایی ، آلبینیسم نسبی چشمی-پوستی(فقدان رنگدانه پوست و چشم) وارتشاح شدید و غیر بدخیم سلولهای لنفاوی در اعضای بدن مشخص می شود. فاگوسیتهای بیماران دارای این نقص ایمنی حاوی گرانول های غول پیکر بوده ولی قادر به کشتن باکتری ها نمی باشند. اساس مولکولی این نقص، جهش در یک پروتئین دخیل در تنظیم ترافیک داخل سلولی به نام LYST می باشد. این جهش، قرار گیری پروتئین ها در لیزوزوم های ترشحی را تخریب کرده و آنها را در کشتن باکتری ها ناتوان می سازد.

[1] Chronic granulomatous disease
[2] Chediak-Higashi syndrome

نقص چسبندگی لوکوسیت ها LAD[1]:

همانطور که می دانید اینتگرین ها خانواده بزرگی از مولکول های چسبنده مولکولی می باشند و در چسبندگی لوکوسیت ها و عبور آنها از جدار عروق و ورود به محل التهاب نقش مهمی دارند همچنین این مولکول ها در اتصال لکوسیت ها به هم و انتقال پیام های سلولی نقش مهمی می توانند داشته باشند. هر اینتگرین متشکل از یک زنجیره آلفا و یک زنجیره بتا می باشد و اینتگرین ها را بر اساس تفاوت زنجیره بتا تقسیم بندی می کنند. در بیماران LAD نقص در فعالیت اینتگرین ها می باشد و این بیماران نسبت به عفونت های باکتریایی و قارچی حساس بوده و ترمیم زخم در آنها به کندی صورت می گیرد. سه نوع مختلف LAD مربوط به نقص اینگرین ها شرح داده اند:

1) **LAD1**: در این بیماران زنجیره β2 از مولکول اینتگرین (CD18) نقص دارد و این بیماران علاوه بر اینکه ممکن است نوترفیلی (افزایش مطلق تعداد نوترفیل ها) داشته باشند از عفونت های شدید رنج برده و بند ناف آنها با تاخیر جدا می شود.
2) **LAD2**: در این بیماری بدلیل جهش (موتاسیون) در جن ناقل فوکوز بیان نوعی سلکتین (CD15a) در لکوسیت ها دچار اختلال می باشد.
3) **LAD3**: در این نوع برخلاف نوع 1و2 ، CD18 وCD15a طبیعی می باشد ولی فعال شدن اینتگرین مختل می باشد.

ایدز و سایر نقایص ایمنی ثانویه یا اکتسابی:

سندرم نقص ایمنی اکتسابی[۲]

این بیماری یک بیماری پیشرونده و غیر قابل درمان تا اکنون است. این بیماری از سال 1986 به عنوان یک بیماری جدید و مشخص شناسایی شد. عامل این بیماری ویروسی به نام HIV[3] بوده و در حال حاضر هر دقیقه 16 نفر در جهان به این ویروس آلوده می شوند. بر خلاف تصور عمومی که ایدز را یک بیماری مختص به کشور های پیشرفته می دانند، بیش از 90 فی صد موارد آلودگی، مربوط به کشور های جهان سوم و در حال توسعه است. زمانی که ویروس ایدز وارد بدن می شود، سلول های CD4+ سیستم ایمنی را که نقش اصلی در دفاع از بدن در مقابل عوامل بیماری زا ایفا می کنند، مورد حمله قرار می دهد و آنها را تخریب می کند. در نتیجه دفاع بدن در مقابل انواع عوامل بیماری زا ضعیف شده و میکروب هایی که در حالت عادی هیچ عارضه ای در فرد ایجاد نمی کنند، به ناگاه بیماری های شدید و کشنده را باعث می شوند و فرد مبتلا نسبت به ابتلا به انواع بیماری های عفونی حساس می شود. گاهی از زمان ورود ویروس به بدن تا بروز عوامل بیماری ماهها و یا سالها طول می کشد. یعنی چه بسیارند افراد به ظاهر سالمی که در واقع ناقل ویروس ایدز هستند و می توانند دیگران را آلوده کنند.

---

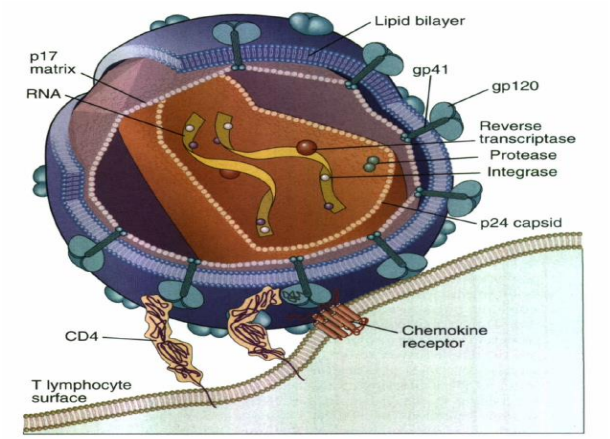
[1] Leukocyte adhesion deficiency
[2] Acquired Immune Deficiency Syndrome
[3] Human deficiency syndrome

چرخه زندگی[1]:

عفونت HIV وقتی ایجاد می شود که ذرات ویروسی در خون، منی یا سایر مایعات بدن فرد آلوده از طریق تماس جنسی و یا جفت به بدن فرد دیگر وارد شود. گلیکو پروتئین gp41 و gp120 در پوشش سطحی ویروس HIV، مهم هستند. اولین مرحله عفونت HIV، اتصال gp120 ویروس به مولکول های CD4 در سطح سلول های T است.

HIV پس از ورود به سلول Tکمکی (CD4+) ، پوشش خود را از دست داده و RNA تک رشته خود را به سلول وارد می کند. در داخل سلول از RNA تک رشته ای توسط انزایم ریورس تراس کریپتاز یک کاپی DNA تک رشته ای ساخته شده و این DNA به داخل DNA میزبان توسط انزایم اینتگراز قرار می گیرد، آنگاه DNA ویروس همراه DNA سلول همانند سازی انجام داده و از امکانات سلول جهت ساخت اجزاء ویروس کمک می گیرد. افزایش نسخه برداری از جن HIV در سلول های T، احتمالاً بدلیل فعال شدن فیزیولوجیک این سلول ها با آنتی جن یا تحریک سایتوکین ها باشد.

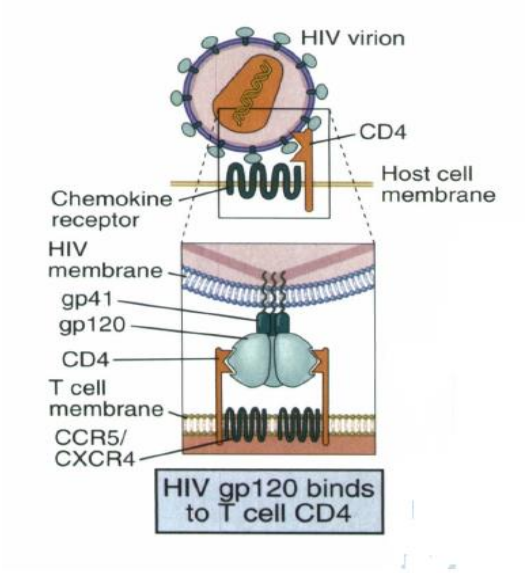
نکته : HIV علاوه بر گلیکو پروتئین های gp41 و gp120 در سطح خارجی، در پوشش پروتئینی(کپسید) خود دارای یک پروتئین اختصاصی بنام P24 می باشد که امروزه از خاصیت آنتی جنیک آن برای تشخیص زود هنگام عفونت HIV قبل از تولید آنتی بادی استفاده می شود. در شکل 1-7 ساختمان سلولی HIV آمده است.



شکل 1-7: ساختمان HIV: RNA ویروس، پوشش پروتئینی
حاوی P24 وپوشش گلیکوپروتئینی حاوی gp41 وgp120

با وجودی که ویروس HIV به CD4 موجود بر سطح سلول اتصال می یابد، ولی این میانکنش به تنهایی برای ورود ویروس و ایجاد عفونت کافی نمی باشد. بیان سایر مولکول های سطحی یا کمک پذیرنده ها بر سطح سلو ل های T و منوسیت ها برای عفونت HIV ضروری می باشد. امروزه مشخص شده که ورود HIV به سلول T علاوه بر CD4 نیاز به یک کمک گیرنده[2] از خانواده کموکاین ها بنام CXCR4 می باشد که نقش این کمک گیرنده را در منوسیت ها و ماکروفاژها، گیرنده کموکاین دیگری بنام CCR5 بعهده دارد.

[1] Life cycle
[2] Coreceptor



شکل 2-7: CD4 و بقیه مولکول های سطح سلول که در ورود HIV به سلولT دخیل می باشند.

RNA وراثتی در HIV دارای سه جن ساختاری و شش جن تنظیمی می باشد که هرکدام وظیفه مشخصی دارند.

1) **جن های ساختاری** :gag،pol و env

Gag: ساخت پوشش کپسیدی

Pol: ساخت انزایم های ریورس تراس کریپتاز، پروتئاز، اینتگراز و ریبونوکلئاز

Env: ساخت گلیکوپروتئین های gp20 وgp141

2) **جن های تنظیمی شامل** : tat, rev, nef, vif, vpr, vpu

Tat: در فرایند رونویسی جن ویروس دخیل است.

Rev: باعث خروج RNA ویروس از جنوم میزبان می شود.

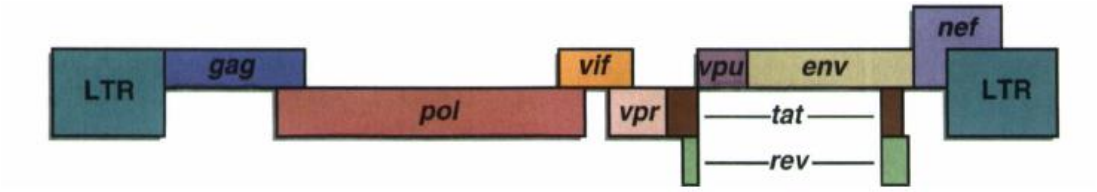
Nef: باعث کاهش بیان MHCI در سلول +CD4 می شود.

Vif: در مهار انزایم های سلول میزبان که در روند ویروس کشی دخیل می باشند فعالیت دارد.

Vpr: در فرایند همانند سازی جنوم ویروس نقش دارد.

Vpu: در آزاد سازی ویروس کامل شده از سلول دخیل است.

نکته: تاکنون دو تایپ از HIV به نام های HIV1 وHIV2 شناسایی شده که HIV1 بیشتر Vpu و HIV2 بیشترVPr را دارا هستند.

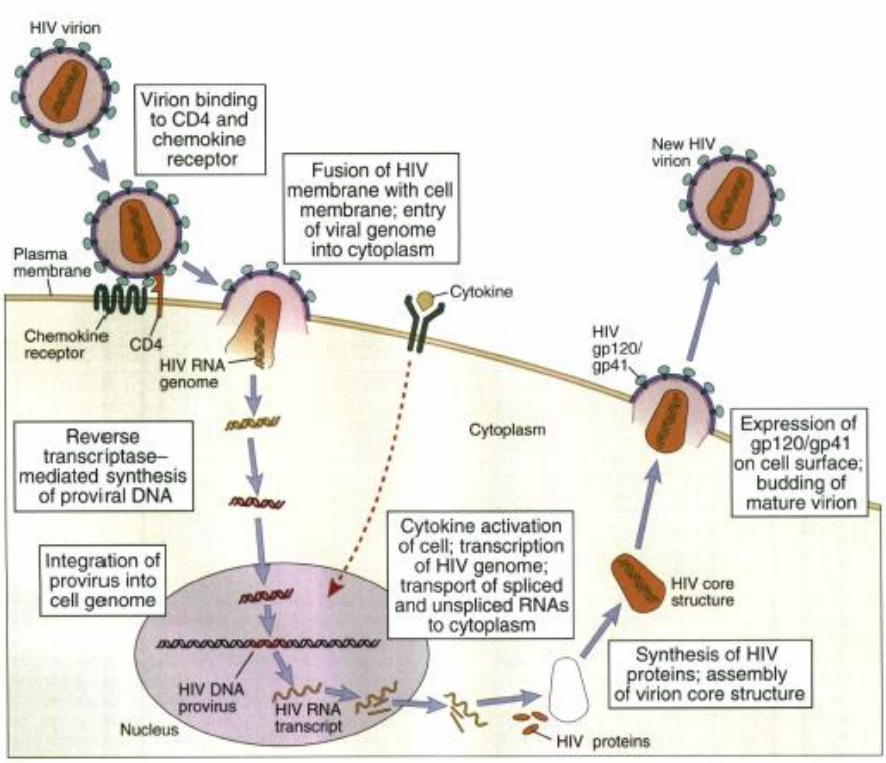


شکل 3-7: نقشه جنتیکی جن های ساختاری و تنظیمی ویروس HIV

در زمان کوتاهی پس عفونت اولیه ممکن است از هر یک صد سلول T یکی آلوده به HIV شود، مکانیسم های دفاعی میزبان ابتدا موثر عمل نموده اما نهایتاً ویروس بر سلول T غلبه نموده و بطور پیشرونده ای سلولT را آلوده نموده و آن را ازبین می برد.

مراحل بیماری زایی:

عفونت HIV با سرکوب ایمنی و نشانه های بالینی حاصل از آن همراه می باشد. اگرچه گه عفونت اولیه فاقد علامت است، اما بسیاری از بیماران دو تا شش هفته پس از مواجه با ویروس، سندروم HIV حاد[1] را بروز می دهند. که این سندروم شامل نشانه هایی مثل تب، سردرد، التهاب گلو، لمفادنوپاتی و راش های پوستی می باشد. این بیماری حاد نمی تواند دلیل اختصاصی برای تشخیص اختصاصی HIV باشد. طی این مرحله اولیه عفونت، ویروس به سرعت تکثیر یافته و قادر به شناسایی در خون و CNS خواهد بود، بعد از مرحله حاد مرحله نهفته و بدون علامت کلینیکی ظاهر می شود این مرحله ممکن است بین سه تا بیست سال طول بکشد در این مرحله ویروس با تکثیر در سلول های CD4+ وافزایش آلودگی ماکروفاژها و دندرتیک سل ها، باعث کاهش تعداد سلول های CD4+ به تعداد 200 عدد در میلی لیتر مکعب می شود پس از این که سلول ها T به این تعداد کاهش پیدا نمود مرحله نهایی و مزمن بیماری و علایم کلینیکی بیمار AIDS که شامل ابتلا به انواع عفونت های فرصت طلب، بدخیمی ها، کاشکسی(تحلیل بدن) و نارسایی کلیه و سرطان هایی مثل سارکوم کاپوزی می باشد بروز می نماید.



شکل4-7: مکانیسم ورود HIV به سلول، تکثیر داخل سلول و خروج آن از سلول

[1] Acute HIV syndrome

تشخیص آزمایشگاهی HIV:

روش های آزمایشگاهی متفاوتی جهت تشخیص HIV وجود دارد مثل روش های سرولوجیک، روش های تشخیص آنتی بادی که هم به روش راپید و هم به روش Elisa وجود دارد، روش های تشخیص آنتی جن های اختصاصی مثل P24 به روش Elisa ، وسترن بلات و روش های تشخیص مولکولی که نسبت به بقیه اختصاصی تر و محدودیت زمانی تشخیص کمتری دارد. آنتی بادی های ضد gp41 وgp120 را در مرحله اولیه عفونت بین هفته های ششم تا نهم مواجه به HIV در سرم می توان جستجو نمود که برای تعیین این آنتی بادی ها از روش Elisa استفاده می شود. همچنین جهت تایید از روش های وسترن بلات و واکنش زنجیره پلی مراز[1] به خصوص برای تشخیص جنوم ویروس در سلول یا مایعات بدنی استفاده می گردد. شمارش سلول های CD4+ در خون به کمک روش فلوسایتومتری بهترین شاخص تشخیص پیشرفت عفونت HIV در بیماران مبتلا به AIDS می باشد. در صورتی که شمارش این سلول ها به کمتر از 200 عدد در میلی لیتر مکعب برسد (مرحله نهایی بیماری) شروع عفونت های فرصت طلب مثل پنموسیستیس کارینی و کاندیدا آلبیکنس آغاز می شود.

درمان و پیشگیری HIV:

درمان قطعی و یا واکسین برای عفونت HIV تاکنون وجود ندارد ولی از جمله ادویه موفق که تاکنون استفاده شده می توان به زیدوویدین[2] و لامو ویدین[3] اشاره نمود که باعث مهار انزایم ریورس ترانس کریپتاز می شود و استفاده از زیدوویدین تا 75٪ انتقال این ویروس را از مادر آلوده به جنین کاهش می دهد. با توجه به اینکه ویروس HIV به علت قدرت موتاسیون بالا و سریع خیلی زود به این دارو ها مقاوم می گردد در حال حاضر از درمان جدید سه دارویی که عموماً به عنوان درمان ضد رتروویروسی بسیار فعال[4] شناخته می شود استفاده می گردد. در این درمان مهار کننده پروتئاز همراه دو مهار کننده رتروترانس کریپتاز بکار می رود.

هریک از عفونت های که در بیماران مبتلا به ایدز به وجود می آید را می توان با آنتی بیوتیک های مناسب درمان نمود. تلاش برای پیشگیری(وقایه) از عفونتHIV حائز اهمیت فراوان است و می تواند در کنترل اپیدمی های HIV بسیار موثر باشد. غربالگری روتین خون و محصولات خونی قبل از اهدا در دهندگان باعث کاهش قابل ملاحظه انتقال بیماری از این طریق شده است. آموزش بهداشت عمومی به منظور ترویج استفاده از کاندوم و استفاده سرنج های یک بار مصرف در معتادین تزریقی بطور گسترده ای می تواند باعث کاهش شیوع HIV در جامعه خواهد شد.

---

[1] Polymerase chain reaction (PCR)
[2] ziduvodine
[3] lamuvidine
[4] Highly Active Antiretroviral Therapy(HAART)

تلگرام https://t.me/Khu_medical

مقدمه ای بر سرولوجی:

سرولوجی علم مطالعه سرم ها میباشد. از دید اختصاصی تر، سرولوجی عبارت از مطالعه واکنش های آنتی جن و آنتی بادی در خارج از بدن است (Invitro) .

ایمنی روشهایی است که توسط آنها ارگانیسم زنده از خود در مقابل عفونت دفاع می کند.

ایمونولوجی علم مطالعه تولید آنتی بادی بر علیه آنتی جن های بیگانه در بدن است (In vivo).

1- اساس و پایه آزمایشات سرولوجی:

آزمایشات سرولوجی بالینی یکی از روشهای سریع و آسان در تشخیص بیماریها می باشد این آزمایشات بر اساس اتصال آنتی بادیهای اختصاصی (Specific antibody) به آنتی جن مربوطه صورت می گیرد. آنتی جن مورد نظر می تواند باکتری، وایروس، اریتروسیت، پروتئین، هورمون یا چیزی دیگر باشد.[1]

اتصال آنتی جن به آنتی بادی یک واکنش اختصاصی، دو طرفه و برگشت پذیر می باشد و از قوانین تئوری عکس العمل بین اسیدهای ضعیف و قلوی ها پیروی می کند.

آنچه که باید در رابطه با آزمایشات سرولوجیک بدانیم:

عواملی که بر واکنشهای آنتی جن و آنتی بادی دخالت می کنند.

1) افینیتی یا قدرت اتصال آنتی بادی به آنتی جن:

2) اویدیتی[2]: قدرت اتصال آنتی بادی به آنتی جن های پلی والان[3] را آویدیتی می گویند

3) PH محیط

4) قدرت یونی محیط (ionic strength)

[1] Affinity
[2] Avidity
[3] poly valan

5) زمان

6) درجه حرارت

7) تأثیر حرکت دادن

8) نسبت غلظت آنتی جنو آنتی بادی

9) تأثیر مواد احیاء کننده

انواع واکنشهای سرولوجیک

طبقه بندی واکنشهای سرولوجیک بر اساس شکل مولکولی آنتی جن یا کار آنتی بادی و آنتی جن انجام می گیرد.

انواع واکنشهای سرولوجیک بر اساس شکل مولکول آنتی جن:

1) واکنشهای متراکم یا آگلوتینیشن[1]

b- واکنشهای رسوبی یا پرسیپیتیشن[2]

c- واکنشهای متغییر یا فلوکولیشن (Fluccolation):

4-2-1: انواع واکنشهای سرولوجیک بر اساس کار آنتی بادی و آنتی جن:

1: واکنشهای آگلوتینیشن

2: واکنشهای پرسیپیتیشن

3: واکنشهای نوترالیزیشن

4: واکنشهای فیکسیشن کمپلمان یا ثبوت مکمل

5: واکنشهای ایمونوالکتروفورز

6: واکنشهای نشاندار با مواد فلوروسانس

[1] Agglutination
[2] Precipitation

7: واکنشهای نشاندار با آنزیم [1]

8: واکنشهای نشاندار با مواد رادیو اکتیو[2]

9: واکنشهای کمی لومینسانس

انواع آگلوتینیشن

1) آگلوتینیشن غیر فعال:

اگر در آزمایش آگلوتینیشن، آنتی بادی ناقص یا مسدود کننده باشند، بعبارتی وقتی از چندین ظرفیت آنتی بادی فقط یک ظرفیت آن به آنتی جن ذره ای متصل شود کمپلکس (Ab-Ag) ایجاد می شود و شبکه کمپلکس آنتی جن و آنتی بادی تشکیل نمی گردد بنابراین آگلوتینیشن با چشم دیده نمی شود به این نوع واکنش می گوییم آگلوتینیشن غیر فعال.

برای تولید شبکه کمپلکس آنتی جن و آنتی بادی از معرف کومبس (آنتی گاماگلوبولین انسانی[3]) استفاده می کنند که باعث تشکیل شبکه ای از آنتی جن ها و آنتی بادی گشته و آگلوتینیشن قابل رویت می گردد معمولاً در این موارد کلمه کومبس به اول نام آزمایش اضافه می کنیم مثلاً تست کومبس رایت[4]

2) آگلوتینیشن غیر فعال یاپاسیو[5] :

چنانچه گفته شد وقتی آنتی جن ها محلول باشند نمی توانند تولید آگلوتینیشن کنند بنابراین برای ایجاد آگلوتینیشن، آنتی جن های محلول را روی ذرات لاتکس (ذراتی مثل پلی استرن و در قطرهای 0/8 میکرون و سایزهای دیگر) سوار می کنند بدین صورت آنتی جن هایی بدست می آید که شبیه آنتی جن های ذره ای بوده و در واکنش با آنتی بادیهای اختصاصی تولید آگلوتینیشن می کنند که با چشم دیده می شود به این آگلوتینیشن، آگلوتینیشن غیر فعال یا لاتکس آگلوتینیشن می گوییم مثل تست CRP، تست RF و تست گراویندکس

3) هم آگلوتینیشن:

---

[1] Enzyme Immuno assay(EIA)

[2] Radio Immuno assay(RIA)
[3] Anti Human Glubin
[4] coombs wright
[5] passive

اگر آنتی جنذره ای خود اریتروسیت باشد. آگلوتینیشن حاصله را هم آگلوتینیشن می گویند. مثل تعیین گروههای خونی، مثل تست هم آگلوتینیشن برای منونوکلئوز عفونی و تست هم آگلوتینیشن برای کیست هیداتیک

طرز تهیه سوسپنشن 5-3٪ اریتروسیت

برای اینکار ابتدا چند سی سی خون کامل (مثلاً 2-1 سی سی) را در داخل یک لوله آزمایش ریخته و لوله را پر از سرم فیزیولوجیک می کنیم و آنرا به آرامی مخلوط می کنیم.

مرحله شستشو:

1- لوله را در داخل سنتریفوژ با دور 3000 بمدت 5-3 دقیقه سنترفیوژ می کنیم .

2- لوله را از سنترفیوژ برداشته با سر و ته کردن آرام لوله مایع سفید رویی (فوقانی) را دور می ریزیم.

3- کمی سرم فیزیولوجیک به لوله اضافه کرده، آنرا آرام مخلوط کرده و سپس لوله را با سرم فیزیولوجیک پر می کنیم.

4- مجدداً سنتریفوژ می کنیم و از مرحله دوم به بعد را 4-3 بار تکرار می کنیم.

5- در مرحله آخر مایع رویی را دور ریخته و گلبولهای قرمز رسوب شده را به آرامی به هم می زنیم.

مرحله تهیه سوسپنشن 5٪: 0/5 سی سی از RBC شسته شده را برداشته و در داخل یک لوله بزرگ یا فلاکس کوچک می ریزیم و سپس روی آن 9/5 سی سی سرم فیزیولوجیک اضافه می کنیم. (0/5 = 5٪)

اگر خون شسته شده زیاد باشد می توان حجم بیشتری از سوسپنشن را تهیه کرد. مثل RBC5cc -95cc سرم فیزیولوجیک .

تعیین گروه خونی سیستم ABO:

الف_ روش مستقیم (Cell Type)

ب_ روش غیر مستقیم یا معکوس (Back Typing or Revers):

الف_ روش مستقیم تعیین گروه خونی:

یک صفحه شیشه ای (لام) یا کاشی سفید انتخاب کرده و از خون کامل یا سوسپنشن اریتروسیت 50٪ دو قطره مجزا روی کاشی یا لام قرار می دهیم.

از آنتی سرم A (ویال آبی رنگ) یک قطره روی قطره خون سمت چپ اضافه می کنیم و از آنتی سرم B (ویال زرد رنگ) یک قطره روی قطره خون سمت راست اضافه می کنیم.

با آپلیکاتور پلاستیکی آنرا به هم می زنیم و بعد از 2-1 دقیقه هم آگلوتینیشن را بررسی می کنیم نتایج واکنش هم آگلوتینیشن و تعیین گروه خونی در جدول زیر نمایش داده شده است.

هم آگلوتینیشن با Anti-B	هم آگلوتینیشن با Anti-A	
-	+	گروه خونی A
+	-	گروه خونی B
+	+	گروه خونی AB
-	-	گروه خونی O

ب- تعیین گروه خونی به روش معکوس (Revers typing):

در این روش از سرم (بجای خون) برای تعیین آنتی بادی گروه های خونی استفاده می کنیم سپس از روی نوع آنتی بادی شناسایی شده ، نوع آنتی جن(نوع گروه خونی)را تشخیص می دهیم.

- ابتدا سوسپنشن های 50٪ گروه خونی B و A را بطور جداگانه تهیه می کنیم.

- یک لام شیشه ای یا کاشی سفید را انتخاب کرده و دو قطره سرم فرد را بطور جداگانه روی لام قرار می دهیم.

- سپس از روی سوسپانسیون اریتروسیت 50٪ A یک قطره روی سرم چپ اضافه می کنیم و یک قطره از سوسپانسیون 50٪ B را به سمت راست اضافه می کنیم.

- با آپلیکاتور پلاستیکی آنرا به هم می زنیم و بعد از 2-1 دقیقه نتایج هم آگلوتینیشن را بررسی می کنیم.

- نتایج واکنش هم اگلوتینیشن و تعیین گروه خونی غیر مستقیم در جدول زیر نمایش داده شده است.

نوع آنتی بادی در سرم	هم اگلوتینیشن با سوسپنشن B	هم اگلوتینیشن با سوسپنشن A	
Anti-B	+	-	گروه خونی A
Anti – A	-	+	گروه خونی B
-	-	-	گروه خونی AB
Anti-AB	+	+	گروه خونی O

روش تعیین Rh در لوله و آزمایش تکمیلی کومبس:

1- در یک لوله آزمایش 12×75 یک قطره سوسپنشن 50٪ RBC (یا خون کامل) می ریزیم .

2- یک قطره آنتی سرم D اضافه می کنیم و بعد از 2 دقیقه آگلوتینیشن را بررسی می کنیم اگر مشکوک بودیم و یا آگلوتینیشن ضعیف باشد مرحله بعد را انجام می دهیم.

3- دو قطره آنتی هیومین گلوبولین (معرف کومبس) اضافه می کنیم.

4- 3-4 دقیقه در حرارت اطاق و یا 37°C انکوبه میکنیم.

5- با دور 1000 بمدت یک دقیقه سنتریفوژ می کنیم.

و سپس با انگشت دست ، به آرامی ضربه ملایمی به انتهای لوله می زنیم و نتیجه آگلوتینیشن را بررسی می کنیم.

آزمایش کومبس مستقیم:

هدف:

تعیین Anti-D هایی است که توسط مادر تولید شده و روی RBC جنین اتصال یافته اند. بنابراین نمونه لازم همان خون بند ناف (یا گلبولهای قرمز نوزاد) خواهد بود و این آزمایش هنگام تولد از نوزاد انجام می گیرد تا به موقع تعویض خون انجام شود.

آزمایش کومبس غیر مستقیم:

هدف:

تعیین آنتی کرهای D از سرم مادر است .این آزمایش از سرم مادر در زمان قبل از حاملگی یا مراحل اول حاملگی انجام می گیرد تا مشخص شود آیا مادر در زایمان اول حساس شده یا نه.

آزمایش کومبس غیر مستقیم:

a- مرحله حساس کردن اریتروسیت: ابتدا از گلبولهای قرمز گروه خونی O و Rh^+ سوسپنشن 5٪ تهیه می کنیم.

1- در یک لوله آزمایش 12×100 مقدار 100 میکرولیتر سوسپنشن فوق را میریزیم.

2- مقدار 100 میکرولیتر سرم بیمار (مادر حامله) را اضافه می کنیم.

3- بمدت 30 دقیقه در بن ماری 37 درجه سآنتی گراد انکوبه میکنیم.

b- مرحله شستشو و کومبس:

4- گلبولهای قرمز حساس شده فوق را 3 بار با سرم فیزیولوجیک می شوییم.

5- پس از آخرین سنتریفوژ، لوله آزمایش را برگردانده و تمام سرم فیزیولوجیک را خارج کرده و آخرین قطره را با دستمال کاغذی پاک می کنیم.

6- دو قطره معرف کومبس (آنتی هیومن- گلوبولین) را به لوله فوق اضافه می کنیم.

7- 3 دقیقه در حرارت 37 درجه سآنتی گراد قرار می دهیم.

8- یک دقیقه در دور 1000 سنتریفوژ می کنیم.

تفسیر: نتیجه ازمایش را با ضربه ملایم به ته لوله بررسی می کنیم. آگلوتینیشن مثبت دلالت بر حساس بودن سیستم ایمنی بدن بیمار بر علیه آنتی جن مذکور می باشد.

در آزمایش کومبس مستقیم از خون بند ناف یا خون نوزاد بعد از تولد استفاده کرده و از مرحله 4 به بعد را انجام می دهیم.

کاربرد آزمایش کومبس غیر مستقیم:

1- مادران Rh منفی که احتمالاً بر علیه جنD حساس شده اند.

2- آزمایش کراس مچ

3- تشخیص آنتی جن RhD^u(تست تکمیلی Rh و کومبس)

4- تشخیص گروههای خونی kellو Duffy و kidd

5- تشخیص آنتی بادی های ناقص یا مسدود کننده.

آزمایش رایت: Wright Test:

برای تشخیص بیماری بروسلوزیس که بنام های دیگر نظیر تب مالت و تب مواج نیز مشهور است بکار می رود عامل بیماری شامل باکتری های زیر می باشد:

1- بروسلا آبور توس B.abortus عامل بیماری در گاو

2- بروسلا ملی تنسیس B.Melitensis عامل بیماری در گوسفند و بز

3- بروسلا کانیس B. Canis عامل بیماری در سگ

4- بروسلا سوئیس B. Suis عامل بیماری در خوک

روشهای تشخیص سرولوجیکی بروسلوز:

1- تهیه سرم:

از بیمار خون گرفته و سرم آن را جدا نمایید. چنانچه در روز تهیه سرم، نمونه مورد آزمایش قرار نگیرد، لازم است که تا روز آزمایش سرم ها را در حرارت 8-2 درجه سآنتی گراد نگهداری نمود.

2- تست سریع یا آگلوتینیشن سلایدی:

طبق جدول ذیل مقادیر مختلف سرم مورد آزمایش و آنتی جن بروسلایی را در حفرات یا دوایر سلاید شیشه ای مخصوص به وسیله پیپتهای سرولوجی اضافه نمائید. پس از اضافه کردن آنتی جن، با آپلیکاتور از رقت پایین به رقت بالای محتویات ،آن را مخلوط می کنیم و بمدت 5 دقیقه در روی روتاتور حرکت دورانی می دهیم.

روش راپید:

شماره حفرات اسلاید	1 2 3 4 5
سرم بیمار به میلی لیتر	0/08 0/04 0/02 0/01 0/005
مقدار آنتی جن بروسلایی	یک قطره یک قطره یک قطره یک قطره یک قطره
رقت سرم	20 40 80 160 320
حدود تیتر آنتی بادی	1/20 1/40 1/80 1/160 1/320

3- تست استاندارد تست تیوبی:

طبق جدول زیر مقادیر مختلف سرم فیزیولوجیک ، سرم بیمار و آنتی جن (همان آنتی جن مورد مصرف در روش سلایدی ، با این تفاوت که قبلاً با سرم فیزیولوجیک 20 بار رقیق شده است) را به ده تست تیوب همولیز تمیز (میلیمتر 100*13) به ترتیب زیر اضافه نمایید:

سپس محتویات تست تیوب ها را مخلوط نموده و با جا تست تیوبی (رک) ، به مدت 48 ساعت در حرارت 37 درجه سآنتی گراد قرار دهید و سپس با ضربه مختصری به انتهای تست تیوب ، آزمایش آگلوتینیشن را در انتهای تست تیوب ها مشاهده کنید. آخرین تست تیوبی که آگلوتینیشن داده باشد تیتر آنتی بادی را مشخص می کند. مثلاً اگر آخرین تست تیوب که در آن آگلوتینیشن مشاهده شده است تست تیوب شماره 6 باشد، تیتر آنتی بادی در سرم مورد آزمایش برابر 1/640 خواهد بود. یکی از طریق مطالعه آگلوتینیشن برای صرفه جوئی در وقت، سنتریفوژ سریع تست تیوب ها در 3000rpm به مدت یک دقیقه و مطالعه آگلوتینیشن می باشد.

تلگرام https://t.me/Khu_medical

جدول رایت تست تیوب ای:

شماره تست تیوب	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
سرم فیزیولوجیک به ml	0/9 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5
سرم بیمار ml	0/1 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5
ابتدا به تست تیوب شماره یک 0/1ml سرم بیمار را افزوده و محتویات را مخلوط نموده و 0/5ml برداشته و به تست تیوب دوم منتقل کنید و این عمل را تا تست تیوب شماره 9 ادامه دهید. سپس از تست تیوب شماره 9، 0/5ml برداشته و دور بریزید و تست تیوب دهم تست تیوب کنترل آنتی جن است.	
آنتی جن رقیق ml	0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 0/5 محتویات کل تست تیوب ها برابر 1ml است
رقت نهایی سرم	20 40 80 160 320 640 1280 2560 5120
تیتر سرم	1/20 1/40 1/80 1/160 1/320 1/640 1/1280 1/2560 1/5120

4- روش انجام آزمایش کومبس:

این آزمایش برای تشخیص آنتی بادیهای ناقص (Incomplete) یا مسدود کننده (Blocking)، خصوصاً در موارد رجعت بروسلوز یا مرحله مزمن می باشد.

1- ابتدا آزمایش رایت تست تیوبی را مطابق دستوری که گفته شده بطور کامل انجام داده و نتایج را یادداشت نمائید.

2- سپس تست تیوب ها را به مدت 10 دقیقه در دور 3000 در دقیقه سنترفیوژ و رسوب آنها را جدا و سه بار با سرم فیزیولوجیک بشویید.

3- پس از آخرین سنترفیوژ، سرم فیزیولوجیک بالای رسوب را دور ریخته و آخرین قطره آنرا با دستمال کاغذی خارج نمایند. سپس به انتهای هر تست تیوب یک قطره سرم آنتی گلبولین انسانی (سرم کومبس) اضافه کرده و تست تیوب ها را تکان دهید.

4- تست تیوب ها را نیم ساعت یا یکساعت در بن ماری 37 درجه سآنتی گراد قرار دهید.

5- تست تیوب ها را به مدت 10 دقیقه در دور 3000 در دقیقه سنترفیوز نمائید.

6- نتیجه را با زدن ضربه آرامی به انتهای تست تیوب ها بررسی و تیتر آخرین تست تیوبی را که آگلوتینیشن مشاهده گردید، گزارش نمائید.

5- روش انجام آزمایش رزبنگال:

آزمایش رزبنگال در منابع مختلف به اسامی رزبنگال پلیت تست، کاردتست (Card test)، آزمون سریع یا راپید (test) و غیره نامیده می شود. آنتی جن رزبنگال به رنگ قرمز متمایل به صورتی و با PH اسیدی برابر با 0/05 ∓ 3/6 و به کتله نهائی 8 درصد، از کلنی های صاف (smooth) بروسلا آبورتوس سویه 99 یا 19 که فاکتورهای آنتی جنی مشترکی با دیگر سویه های بروسلا دارند، طبق روش استاندارد بین المللی در موسسه رازی تهیه میشود. این آنتی جن جهت تشخیص اولیه در برنامه های کنترل و ریشه کنی بروسلوز بکار می رود. آنتی جن رزبنگال را باید دور از نور و در یخچال چهار درجه سآنتی گراد نگهداری کرد و تا زمانی که اتو آگلوتینه نشده، قابل مصرف است. قبل از انجام آزمایش باید ابتدا آنتی جن رزبنگال و سرم بیمار را از یخچال خارج کرده و در محیط آزمایشگاه به مدت 20 تا 30 دقیقه نگهداری نموده تا به دمای آزمایشگاه برسند. سپس روی یک صفحه شیشه ای یا سفید یک قطره معادل 0/03 میلی لیتر سرم را مجاور یک قطره آنتی جن قرار داده و با یک میله نازک چوبی یا پلاستیکی، این دو قطره را با هم مخلوط و به اندازه دایره ای به قطر حدود 2/5 سآنتی متر پخش نمائید. سپس صفحه را در دست یا روی روتاتور بمدت حداکثر چهار دقیقه حرکت داده و نتیجه آگلوتینیشن را در زیر نور چراغ قرائت نمائید. واکنش مثبت به حالتی گفته می شود که دانه های آگلوتینه بطور مشخص جدا از هم دیده شوند و در موارد منفی، دو قطره مخلوط شده به حالت یکنواختی باقی خواهند ماند. در آزمایش رزبنگال موارد مشکوک دیده نمی شود و نتیجه با قاطعیت مثبت یا منفی می باشد.

تبصره 1: آ«تی جنرزبنگال موسسه رازی را نباید رقیق کرد. در صورت رقیق کردن، خصوصیات آنتی جن مانند تعداد ذرات میکروبی، PH و الکترولیتهای آن تغییر می کند و جوابهای مثبت یا منفی کاذب که با وضعیت بالینی هماهنگی ندارند، ایجاد می شود.

تبصره 2: آنتی جن رزبنگال را نباید برای روش تست تیوب ها استفاده کرد.

تبصره 3: آنتی جن رزبنگال، نباید یخ بزند.

روش انجام آزمایش کومبس – رایت

این آزمایش برای تشخیص آ«تی بادیهای ناقص (Incomplete) یا مسدود کننده (Blocking)، خصوصاً در موارد رجعت بروسلوز یا مرحله مزمن می باشد.

1- ابتدا آزمایش رایت معمولی در تست تیوب را مطابق دستوری که گفته شده بطور کامل انجام داده و نتایج را یادداشت نمائید.

2- سپس تست تیوب ها را به مدت 15 دقیقه در دور 2000 در دقیقه سانتریفیوژ و رسوب آنها را جدا و سه بار با سرم فیزیولوژی بشوئید.

3- پس از آخرین سانتریفیوژ، سرم فیزیولوژی بالای رسوب را دور ریخته و آخرین قطره آنرا روی دستمال کاغذی خارج نمایند. سپس به ته نشین هر تست تیوب یک قطره سرم آنتی گلبولین انسانس Polyspecific (سرم کومبس) اضافه کرده و تست تیوب ها را تکان دهید.

4- تست تیوب ها را نیم تا یکساعت در بن ماری 37 درجه سآنتی گراد قرار دهید.

5- تست تیوب ها را بمدت 15 دقیقه در دور 2000 در دقیقه سانتریفیوژ نمائید.

6- نتیجه را با زدن ضربه آرامی به ته تست تیوب ها بررسی و تیتر آخرین تست تیوب ای که آگلوتینیشن مشاهده گردید، گزارش نمائید.

روش انجام آزمایش رایت سانتریفیوژ:

روش رایت سانتریفیوژ توسط دکتر نظری و همکاران در بخش ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران پیشنهاد شده است. برای انجام این آزمایش، سرم را طبق روش معمولی رایت در تست تیوب ها رقیق کرده و به آنها آنتی جن بروسلا را اضافه می کنند و بلافاصله با سرعت 2500 دور در دقیقه بمدت ده دقیقه سانتریفیوژ کرده و جوابها یادداشت می شوند. با این روش اکثراً پدیده منطقه ای نیز از بین می رود.

آزمایش 2ME-Wright Test:

این آزمایش پس از مثبت شدن آزمایش رایت انجام می شود تا کلاس آنتی بادی را تشخیص داد. با این آزمایش، مولکولهای IgM سرم از بین می روند ولی IgGو IgA نسبت به مواد احیا کننده در غلظتی که استفاده می شود، مقاوم است. مواد احیا کننده، پیوندهای دو سولفیدی (-S-S-) را بصورت SH، بین زنجیره های سنگین و سبک ایمونو گلبولین باز می کند. مهمترین کاربرد این آزمایش، تشخیص افتراقی بین بروسلوز فعال از غیر فعال در فردی که تظاهرات بالینی بیماری را ظاهراً دارد ولی کشت خون یا سایز نمونه ها، عاری از میکروب بروسلا و تیتر آزمایش رایت او نیز پائین است. بعلاوه با انجام این آزمایش می توان تأثیرر آنتی بیوتیک مناسب را در درمان بیماری تحت بررسی قرار داد.

محتست تیوبای مورد لزوم:

1- تامپون یا بافر فسفات نمکی PBS=7.2 محتوی 0/1 مولار 2- مرکاپتواتانول (محتوی 0/1 مولار 2- مرکاپتواتانول (2-ME)یا بافر فسفات نمکی محتوی 0/005 مولار 1 و 4- دی تیوترئیتول (DTT). از آنجایی که 2-ME بوی زننده ای دارد و باید در زیر هواکش یا هود (Hood) کار کرد، بنابراین اگر در آزمایشگاهی هود موجود نیست می توان از DTT استفاده کرد. بهتر است است تامپون 2- مرکاپتواتانل در روز آزمایش آماده شود و درب آن محکم بسته شده تا تبخیر و غیر فعال نگردد.

2- آنتی جن بروسلا، سرم و سایر محتست تیوبائی که برای این آزمایش بکار می روند باید فاقد فنل باشند، زیرا که فنل از کار مواد احیاء کننده (2-مرکاپتواتانل و دی تیوئیتول) جلوگیری می کند. در صورتی که آنتی جن محتوی فنل باشد باید قبل از آزمایش چند بار آنرا با بافر فسفات نمکی شستشو داد.

روش کار:

1- تعداد 10 از تست تیوب آزمایش سرولوجی را در جا تست تیوب ای ممناسب قرار دهید. (جدول شماره 3-6).

2- مقدار 00/9 سآنتی متر مکعب بافر فسفات نمکی محتوی ماده احیا کننده را در تست تیوب آزمایش اول بریزید.

3- مقدار 0/1 سآنتی متر مکعب سرم بیمار را به تست تیوب اول آزمایش اضافه نموده و سر تست تیوب را با کاغذ پارافیلم مسدود نمائید.

4- تست تیوب اول را بمدت یکساعت در درجه حرارت اطاق یا 37 درجه سآنتی گراد قرار داده و مواد احیا کننده اثر خود را نموده و باعث تجزیه و غیر فعال شدن IgM گردد.

پدیده منطقه ای یا پره زون:

در صورتی که غلظت آنتی بادی بیشتر از آنتی جن باشد واکنش انجام نمی گیرد و احتمال جواب کاذب در تست تیوب های اول وجود دارد که در تست رایت دیده می شود.

ب- روش آگلوتینیشن سریع: Rapid Plate Agglutination Test

روی شیشه پاک و تمیزی بکمک خط کش و مداد شمعی حدود 64 مربع به ابعاد 1/5*1/5 سآنتی متر می کشیم سپس با استفاده از پی پت 0/1 میلی لیتر و یا سمپلر (Sampler) مقادیر 0/08، 0/04، 0/02، 0/01، 0/005، 0/002 میلی لیتر از سرم خون بیمار را در شش خانه افقی ریخته و یک قطره از آنتی جن مورد نظر را به آنها اضافه می نمائیم.

مخلوط آنتی جن و سرم را توسط اپلیکا تور چوبی بخوبی بهم می زنیم. شاهد نیز یک قطره آنتی جن در خانه هفتم است شیشه را چندین بار تکان داده و نتیجه آزمایش را بعد از یک دقیقه به شرح ذیل ثبت می نمائیم.

100٪ آگلوتینیشن با علامت (++++)، 75٪ آگلوتینیشن با علامت (+++)، 50٪ آگلوتینیشن باعلامت (++)، 25٪ آگلوتینیشن با علامت (+) و بالاخره آگلوتینیشن منفی با علامت (-) مشخص می شود. (تابلوی شماره 2).

لازم به یادآوری است که در روش آگلوتینیشن سریع چند نکته زیر را باید مد نظر داشت.

1- تیتراژ برابر است با عکس بالاترین رقتی که با مقایسه شاهد حداقل 50٪ (++) آگلوتینیشن از خود نشان دهد.

2- بعد از اضافه نمودن آنتی جن مقادیر 0/08 تا 0/02 میلی لیتر از سرم خون به ترتیب معادل $\frac{1}{20}$ ، $\frac{1}{40}$،$\frac{1}{80}$،$\frac{1}{160}$،$\frac{1}{320}$،$\frac{1}{640}$ رقت خواهد شد.

3- در این روش باید به محدودیت زمانی توجه خاصی نمودوضمن آزمایش نبایدشیشه الگوتیناسیون را نزدیک حرارت قرار دادکه هر دوصورت مقداری آب تبخیرگشته و نتیجه ای صحیح حاصل نمیگردد.

تابلو(2)نمونه ثبت نتیجه در روش آگلوتینیشن سریع

مقدارسرم (ml)	رقت مشابه	شدت آگلوتینیشن نمونه اول	نمونه دوم	نمونه سوم
٪8	1:20	***	***	****
٪4	1:40	**	****	***
٪2	1:80	*	***	**
٪1	1:160	-	**	*
0/005	1:320	-	*	-
0/002	1:640	-	-	
تیتر سوم		40	160	80

تیتر سوم		40	160	80

ج- روش آگلوتینیشن لوله

این روش که برای کلیه نمونه سرمهای مکشوک مورد استفاده قرار می گیرد به مراتب حساس تر از روش آگلوتینیشن سریع بوده و صرفا به وقت و لوازم آزمایشگاهی بیشتر نیاز دارد.

روش آزمایش:

تهیه رقت آنتی جن: در آزمایش ویدال ابتدا آنتی جنسالمونلای مورد نظری که برای آزمایش به روش آگلوتینیشن سریع استاندارد گردیده را با محلول سرم فیزیولوژی فرمله (0/5٪) به نسبت⅛ رقیق می نمائیم. در مورد آزمایش رایت ووایل فلیکس باید از آنتی جنی (بروسلا آبورتوس و پروتئوس ولگاریس) که برای آزمایش به روش لوله استاندارد گردیده استفاده نمود.

روش کار : تعداد ده لوله (10*100) را در جا لوله ای قرار داده و در لوله اول 0/9 و در کلیه لوله های بعدی 0/5 میلی لیتر سرم فیزیولوژی (0/9 در صد) می ریزیم به لوله اول 0/1 میلی لیتر سرم مورد آزمایش را اضافه نموده و بعد از مخلوط نمودن آنها بوسیله پی پت، 0/5 میلی لیتر از آنرا به لوله دوم و 0/5 میلی لیتر از لوله دوم را به سوم و به ترتیب تا لوله نهم انتقال می دهیم ضمنا 0/5 میلی لیتر مایع اضافی لوله نهم را دور می ریزیم. به هر یک از لوله ها 0/5 میلی لیتر از آنتی جنرقیق شده و یا استاندارد شده برای روش لوله را اضافه نموده و بعد از بهم زدن به شرح زیر در گرمخانه قرار می دهیم.

آنتی جنهای فلاژلا سالمونلاها به مدت یک ساعت در 50 درجه و یا سه ساعت در 37 درجه سانتیگرد.

آنتی جنهای سماتیک سالمونلاها به مدت 16 ساعت در 50 درجه و یا 24 ساعت در 37 درجه سانتی گراد.

آنتی جنبروسلا آبورتوس (لوله) به مدت 24 تا 48 ساعت در 37 درجه سانتی گراد.

آنتی جنهای پروتئوس ابتدا به مدت 2 ساعت در 37 درجه سپس 16-18 ساعت در 4 درجه سانتی گراد.

بعد از زمان اینکوباسیون، بوسیله نور فلورسنتی که در زمینه سیاهی بتابد درجه آگلوتینیشن را با مقایسه شاهد (لوله دهم که دارای 0/5 میلی لیتر آنتی جناست) طوری ثبت می نمائیم که علامت (++++) مشخص کننده صد در صد آگلوتینیشن

آنتی جنبا آنتی کر باشد یا بعبارت دیگر هنگامیکه در ته لوله آگلوتینیشن به خوبی مشاهده گردیده و مایع لولهمانند سرم فیزیولوژی کاملاً شفاف باشد.

Quantitative CRP و اهمیت بالین آن:

CRP یک پرزوتئین فاز حاد التهابی است که در حالت نرمال به تعداد خیلی کم در سرم وجود دارد (کمتر از 0/5 mg/dl در پی هر گونه التهاب، آزردگی بافتی ممکن است این پروتئین تا 100 برابر افزایش یابد. بنابراین اندازه گیری آن در بیماریهای مختلف از جمله در عفونتها، التهابات، تروما و انفارکتوس میوکارد ارزش ویژه ای داشته و در تشخیص افتراقی، پیگیری و تایید درمان این بیماریها کاربرد دارد.

امروزه ثابت شده است که در تعیین مقدار کمی (Quantitative CRP) یا (hs CRP) در مقایسه با ابررسی شاخص های دیگر التهاب مانند تب – درد- افزایش گلبولهای سفید خون (WBC) و سرعت رسوبی گلبولی (ESR) قابل اعتمادترین شاخص است و به دلیل نیمه عمر کوتاه آن بعد از حذف عامل تحریک سریعاً کاهش می یابد و بعنوان یک آزمون غربالگری سودمند برای تشخیص و تایید و پیگیری درمان بیماریهای عفونی التهابی (میکروبی) ویرال و انواع بدخیمی ها و انفارکتوس میوکارد بکار میرود.

- ارزش hs CRP در تشخیص بیماریهای التهابی و انفارکتوس میوکارد:

در حال عادی کمتر از 0/5 mg/dl نرمال محسوب می گردد.

در بیماران عفونت حاد باکتریایی میزان آن به 350-150 mg/dl می رسد.

در بیماران عفونت حاد وایروس حدود 40-20 mg/dl می باشد.

در موارد انفارکتوس میوکارد به میزان 10-4 mg/dl افزای می یابد.

امروزا از CRP کمی یا hs CRP در مایع نخاع (CSF) برای افتراق سریع مننژیت باکتریال از ویرال استفاده می شود.

با کنترل مدام میزان hs CRP امکان تشخیص زود رس مشکلات احتمالی پس از سکته قلبی را میسر می سازد.

متد اندازه گیری hs CRP : ایمونو توربیومتری یا روش الیزا می باشد.

روش انجام آزمایش CRP:

در گذشته از پلی ساکارید C پنوموکوک برای تشخیص CRP استفاده می شد ولی به علت مشکلاتی که در تهیه این آنتی جنوجود دارد، امروزه از کیتی که بدین منظور تهیه می شود، برای تشخیص CRP در سرم استفاده می شود. در این کیت، از آنتی بادی ضد CRP (anti CRP) برای تشخیص CRP در سرم استفاده می شود.

ازای موجود در کیت CRP

قطه چکان حاوی سرم کنترل مثبت (Positive Control)

قطره چکان حاوی سرم کنترل منفی (Negative Control)

قطره چکان حاوی آنتی بادی ضد CRP از کلاس IgG، که بر سطح ذرات لاتکس متصل شده است.

اسلایدزمینه سیاه

اپلیکاتور

بافر برای رقیق کردن و تیراسیون سرم بیمار (در برخی از کیتها)

آزمایش CRP به دو روش کیفی و کمی انجام می شود:

روش کیفی (اسلایدی):

روی اسلاید زمینه سیاه یک قطره سرم بیمار، یک قطره سرم کنترل مثبت و یک قطره سرم کنترل منفی بریزید.

شیشه محتوی ذرات لاتکس را به آرامی تکان داده، سپس به هر کدام از سه قطره سرم مرحله قبل، یک قطره از آن را اضافه نماید.

با اپلیکاتور هر کدام از سرم ها را با ذرات لاتکس، مخلوط نموده، به اندازه دایره ای به قطر دو سانتی متر پخش نماید.

لام را به مدت 5 دقیقه به آرامی بر روی دست یا روتاتور حرکت دورانی داده و نتیجه آگلوتینیشن را زیر نور بررسی نموده به صورت زیر گزارش نماید.

آگلوتینیشن درشت +++ (3+)

آگلوتینیشن متوسط ++ (2+)

آگلوتینیشن ریز + (+1)

آگلوتینیشن مشاهده نمی شود (سوسپانسیون یکنواخت و شیری رنگ) – (منفی)

در صورت اثبات وجود CRP در سرم بیمار، به منظور اندازه گیر ی مقدار و یا تیتر آن در سرم، روش کمی (لوله ای) را انجام دهید.

نکته: گاهی اوقات مقدار CRP در سرم بیمار بسیار زیاد است، در نتیجه به علت پدیده منطقه ای (Zone Phenomenon) ممکن است یک سرم مثبت، اشتباهاً منفی گزارش شود. بنابراین بهتر است چنانچه آزمایش CRP سرمی منفی شد، قبل از اینکه آن را منفی گزارش نمایید با رقت 1/5 یا بیشتر آزمایش را تکرار نمایید.

روش نیمه کمی (لوله ای)

برای هر نمونه سرمی، شش عدد لوله آزمایش را با شماره های1 تا 6 علامت گذاری کنید.

به همه لوله ها 50 لاندا (میکرولیتر) تامپون یا سرم فیزیولوژی اضافه نمایید.

به لوله شماره 1، 50 لاندا سرم بیمار را اضافه نموده با تکان دادن لوله محتویات داخل لوله را مخلوط نمایید. (غلظت 1/2)

سپس 50 لاندا از محلول لوله شماره 1 را به لوله شماره 2 اضافه کنید و بعد از مخلوط کردن این عمل را برای لوله های دیگر بطور سریال تکرار نمائید. (2 به 3 و ...).

در آخر 50 لاندا از محلول لوله شماره 6 را بیرون بریزید.

با این روش رقتهای مختلفی از سرم (1/2، 1/4، 1/8، 1/16و ...) تهیه می شود.

هر کدام از نمونه های رقیق شده را بر اساس روش کیفی بررسی کنید.

آخرین رقتی که واکنش آگلوتینیشن در آن قابل مشاهده است به عنوان تیتر CRP گزارش نمایید.

تست HCG به روش آگلوتینیشن:

این تست کیفی و نیمه کمی بر اساس واکنش ایمونولوژیک بینhCG متصل به ذرات لاتکس و آنتی بادی های مونوکلونال که بر علیه قسمت های خاصی از زنجیر B ساخته شده اند صورت می پذیرد. در این محصول از روش غیر

مستقیم (indirect) جهت بالا بردن حساسیت استفاده شده است. بدین ترتیب اگر غلظت این هورمون حدوداً بیش از 0/5 واحد (IU) در میلی لیتر ادرار باشد، اتصال آنتی بادی به آنتی جن متصل به ذرات لاتکس (که سبب آگلوتینیشن می گردد) صورت نخواهد پذیرفت. عدم آگلوتینیشن نشان دهنده حاملگی خواهد بود. بر اساس این روش در صورت حاملگی، تست در 8-6 روز پس از قطع پریود مثبت می شود.

معرفها: معرف شماره 1 = محلول آنتی بادی مونوکلونال، معرف شماره 2 = سوسپانسیون لاتکس، معرف شماره 3 = کنترل مثبت، معرف شماره 4 = کنترل منفی.

توجه: معرفها در یخچال (2 تا 8 درجه) تا تاریخ انقضاء کیت قابل استفاده خواهند بود.

سوسپانسیون لاتکس را قبل از استفاده به آرامی تکان دهید و از انجماد آن جداً وددارى نمایید.

معرفها حاوی Sodium azide می باشند. در مصرف آنها احتیاط کنید.

نمونه های آزمایش:

جهت انجام آزمایش، اولین ادرار صبحگاهی که حاوی HCG بیشتری می باشد توصیه می شود.

لازم است که نمونه های ادرار در ظروف خشک و تمیز بدون مواد شوینده جمع شوند.

بسیار ضروری است که نمونه کاملاً شفاف باشد. مواد نا محلول در نمونه ممکن اسن باعث تداخل در واکنش و ایجاد نتایج کاذب شوند. قویاً توصیه می شود که در صورت نیاز جهت حصول به نمونه کاملاً شفاف ادرار صبحگاهی با دور بالا سانتریفوژ شود.

توصیه می شود که نمونه های ادرار بلافاصله بعد از جمع آوری (تهیه) تست شوند یا اینکه در یخچال قرار داده شوند. در این صورت حداقل برای مدت 24 ساعت پایدار خواهند بود. برای مدتهای طولانی تر لازم است که نمونه ها Sodiumazide (0/1 درصد) اضافه شود. یا در فریزر (20C-) قرار داده شوند.

نمونه های فریز شده بایستی کاملاً شفاف باشند. در غیر اینصورت سانتریفوژ نمودن آنها ضروری است.

وجود خون یا آلودگی های میکروبی می توانند باعث نتیجه غلط بشوند. در اثر مصرف بعضی از داروها امکان مشاهده نتایج کاذب وجود دارد.

روش آزمایش:

در انجام آزمایش تعیین حاملگی لازم است که اسلاید و نمونه ادرار به درجه حرارت اطاق رسیده باشند. رساندن سوسپانسیون لاتکس و محلول آنتی بادی به درجه حرارت اطاق ضروری نمی باشد. اسلاید را با آب ولرم بشویید و بلافاصله بخوبی خشک کنید. از نگهداری دراز مدت آن در آب خودداری فرمایید. مراحل زیر را به دقت انجام دهید.

الف- روش کیفی:

1- 50 میکرولیتر (یا یک قطره، با استفاده از قطره چکان همراه کیت) از نمونه های ادرار را در وسط دایره قرار دهید. سپس یک قطره از محلول آنتی بادی را در حالیکه ویال حاوی این معرف به حالت عمودی نگهداری شده است، در کنار آ«ها بچکانید.

2- با استفاده از همزن پلاستیکی، قطرات را طوری مخلوط نمایید تا کاملاً سطح داخلی دایره را پوشانده و حداقل برای مدت 30 ثانیه بصورت دورانی در دست یا با استفاده از روتاتور حرکت دهید.

3- سوسپانسیون لاتکس را به آرامی تکان دهید و یک قطره از آن را به هر یک از نمونه ها بچکانید.

4- با استفاده از همزن پلاستیکی، قطرات را مخلوط نموده و در سطح دایره ها پخش نمایید.

5- اسلاید را مجدداً بطور دورانی برای مدت 2 دقیقه حرکت دهید.

6- میزان آگلوتینیشن را بصورت زیر گزارش کنید:

بدون آگلوتینیشن و کاملاً شیری منفی (حاملگی مثبت)

آگلوتینیشن مشخص مثبت (حاملگی منفی)

آگلوتینیشن ضعیف (مشکوک)

ب- روش نیمه کمی:

1- برای هر نمونه ادرار، 6 عدد لوله آزمایش را با شماره های 1 تا 6 علامت گذاری کنید.

2- 0/5 میلی لیتر PBS یا سرم فیزیولوژی را به لوله شماره 1 و 0/2 میلی لیتر از آن را به لوله های 2 تا 6 اضافه کنید.

3- به لوله شماره 1) 0/5 میلی لیتر از ادرار مورد آزمایش اضافه نمایید و تکان دهید تا مخلوط شود.

4- 0/2 میلی لیتر از محلول شماره 1 را به لوله شماره 2 اضافه کنید و بعد از مخلوط کردن این عمل را برای لوله های دیگر بطور سریال تکرار نمایید (2 به 3 ...)

5- هر کدام از نمونه های رقیق شده را بر اساس روش کیفی فوق بررسی کنید و از اطلاعات زیر جهت مشخص کردن مقدار نیمه کمی هورمون hCG استفاده نمایید (بعنوان مثال، اگر آگلوتینیشن در نمونه اولیه که 32 برابر رقیق شده است دیده نشود، نمونه حدوداً حاوی 24 واحد از hCG در میلی لیتر خواهد بود).

رقت نمونه ادرار	غلظت تقریبی hCG (Iu/ml)
1:2	1/5
1:4	3
1:8	6
1:16	12
1:32	24
1:64	48

اساس تست RPR:

آنتی جن RPR یک سوسپانسیون کاردیولیپین حاوی ذرات بسیار ریز شارکول است. این آنتی جن یک آنتی بادی ضد چربی را شناسایی می کند که به آن رآژین می گویند. رآژین در بیماران سیفلیسی و نیز گاهی در سرم بیماران مبتلا به دیگر بیماریهای حاد یا مزمن یافت می شود. هر گاه نمونه ای حاوی رآژِین ها باشد، یک فلوکولاسیون آنتی جن بوجود می آید که ذرات شارکول را کواگول کرده و کلامپهای سیاه به اندازه های مختلف بر حسب تیتر آنتی جن بوجود می آورد. با نمونه های فاقد رآژین هیچ واکنشی پدید نمی آید و یک سوسپانسیون یکنواخت خاکستری رنگ بر جا می ماند.

معرفها و اجزاء کیت: سوسپانسیون آنتی جن RPR، ویال تقسیم کننده آنتی جن، سر سوزن که هر قطره آن معادل 0/16 میلی لیتر است. پیپت برای انتقال و هم زدن سرم یا پلاسما، اسلاید

احتیاط: نمونه باید از بیمار در حالت ناشتا گرفته شود. سرمهای لیپیک ممکن است واکنش کاذب نشان دهند. با نمونه واضحاً همولیز شده آزمایش انجام نشود. نمونه های آلوده دور انداخته شوند. نیازی به غیر فعال کردن سرم نیست.

تهیه آنتی جن:

- ویال حاوی آنتی جن را قبل از مصرف به خوبی تکان دهید . از تکان های شدید اجتناب گردد.

- سوزن را به ویال تقسیم کننده متصل نموده و به آرامی مقدار مورد نیاز آنتی جن را بداخل ویال پلاستیکی بکشید.

- هر بار پس از پر نمودن ویال پلاستیکی شماره lot و تاریخ انقضاء آنتی جن و تاریخ پر نمودن ویال را بر روی آن ثبت نمائید.

جمع آوری نمونه:

1- سرم از سانتریفوژ خون تازه لخته شده تهیه گردد. اگرچه حرارت ندیده می تواند استفاده شود ولی می توان سرم را به مدت 30 دقیقه و در 56 درجه سیلسیوس حرارت داد. در زمان انجام آزمایش درجه حرارت نمونه باید معادل درجه حرارات اتاق 30-20 درجه سیلسیوس باشد.

چنانچه آزمایش بلافاصله انجام نمی گیرد نمونه را می توان تا 48 ساعت در 8-2 درجه سیلسوس نگهداری کرد.

2- پلاسما: نمونه انتخابی جهت انجام این تست سرم است، هرچند می شود از پلاسما نیز استفاده نمود.

- پلاسما را از خون تازه حاوی ماده ضد انعقاد، (EDTA، هپارین، اگزالات پتاسیم، سدیم فلوراید) تهیه نمائید. دقت شود که ماده ضد انعقاد آن بیش از اندازه نباش به خصوص در مورد اگزالات پتاسیم و سدیم فلوراید که ممکن است باعث نتایج کاذب گردند.

- از مایع مغزی نخاعی استفاده نشود.

- از آزمایش نمونه های مشخصاً آلوده، شدیداً همولیز شده، کدر یا شیری رنگ (Cjylous) خودداری گردد.

روش کیفی:

- دمای سوسپانسیون آنتی جن RPR ، کنترلها را به دمای اتاق برسانید 30-20 درجه سیلسوس و سر سوزن را به ویال پلاستیکی متصل نمائید.

- قبل از انجام هر سری آزمایش بهتر است با کنترلهای مثبت و منفی ابتدا آنتی جن را آزمایش نمایئد.

- با استفاده از پیپت پلاستیکی منتقل کننده یک قطره از نمونه را در یک خانه اسلاید قرار دهید. در هنگام مصرف پیپت اتوماتیک قطره باید معادل 50 میکرولیتر باشد.

- با استفاده از انتهای پهت پیپت پلاستیکی نمونه را در سطح خانه اسلاید پخش نمائید.

- پیپت پلاستیکی را دور بیاندازید.

- ویال پلاستیکی خاوی آنتی جن RPR (متصل به سر سوزن) را به آرامی تکان دهید و در یک وضعیت عمودی نسبت به سطح اسلاید نگهداری و اجازه دهید یک قطره آزاد از آن (معادل 16 میکرولیتر) بر روی سرم بچکد.

- آنها را مخلوط نکنید:

- اسلاید را به مدت 8 دقیقه و به وسیله یک روتاتور با 100 دور در دقیقه بچرخانید.

- پس از این مدت اسلاید را برداشته و به آهستگی حرکت دهید و آن را در زیر نور لامپ بررسی نمائید.

- پس از پایان آزمایش ها سر سوزن را با آب مقطر شسته اجازه دهید بتدریج در دمای اتاق خشک شود. بر روی آن دستمال نکشید زیرا لایه سیلیکون سطح آن را از بین می برد. درب ویال را بسته و در 8-2 درجه سیلسوس قرار دهید.

تفسیر نتایج:

1- فعال یا مثبت (Reactive) بصورت کلامپهای واضح سیاه است (که ممکن است به درجات مختلف از ضعیف، متوسط تا شدید دیده شود.)

2- غیر فعال یا منفی (NotReactive) در سطح اسلاید سوسپانسیون خاکستری یکنواخت دیده می شود.

هر نوع فلوکولاسیون خفیف اما مشخص نیز باید به عنوان فعال(Reactive) یا مثبت گزارش شود.

نتایج مثبت می تواند دلیلی بر عفونت فعلی یا گذشته باترپونم پاتوجن باشد.

نتایج منفی همراه با فقدان علائم بالینی سیفیلیس ممکن است دال بر عفونت درمان شده یا عدم وجود عفونت باشد.

روش کمی:

جهت انجام آزمایش به روش کمی، سرم را به وسیله نرمال سالین به صورت سریال با نسبت 1/2 رقیق نموده و تست نظیر روش ذکر شده در بالا مجدداً تکرار نمائید. چنانچه رقت 1/6 سرمی مثبت باشد برای تهیه رقت های بالاتر از آن از سرم منفی که با نرمال سالین به صورت 1/50 رقیق شده است استفاده گردد.

محدودیت های روش:

گاهی یک واکنش پروزون (کامل یا نیمه مهار شده) با سرمهای رقیق نشده ممکن است دیده شود. تمام نمونه هایی که به هر میزان در روش کیفی مثبت یا فعال باشند باید مجدداً با روش کمی آزمایش شوند.

یک تست منفی یا غیر فعال RPR عفونت نهفته سیفیلس را رد نمی کند. نتایج منفی ممکن است در مرحله ابتدایی سیفیلس اولیه، سیفیلیس ثانویه به علت پدیده پروزون و در بعضی موارد سیفیلس تاخیری مشاهده گردد.

2- نتایج مثبت تست RPR جهت تایید وجود بیماری سیفلیس باید با یک تست ترپونمال نیز تایید شوند مگر بیماربانی که علائم و نشانه های دیاگنوستیک بیماری سیفلیس را دارا هستند.

تلگرام https://t.me/Khu_medical